

Über das Problem der Bifidumflora
beim künstlich ernährten Säugling und ihre
Beeinflussung
durch einen spezifischen Bifidum-Wachsstoff

von

ELFRIEDE LUISE BRAND

Aus der Kinder-Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. G. Weber

Über das Problem der Bifidumflora beim künstlich ernährten Säugling
und ihre Beeinflussung durch einen spezifischen Bifidum-Wuchsstoff

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Elfriede Luise Brand
aus München

München 1959

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Priv.Doiz. Dr. Th. HELLBRÜGGE
Korreferent: Prof. Dr. G. WEBER
Dekan: Prof. Dr. (K. ~~WEBER~~) *Schwiegh*

Tag der mündlichen Prüfung: *15. X. 1959*

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einführung	2
Hinweis auf die Bifidumforschung in der Vergangenheit und ihre mögliche Bedeutung für die Probleme der Gegenwart	
B. Aus dem Schrifttum über Bact. bifidum.	2
I. Bakteriologie von Bact.bif.	
1. Systematische Eingliederung im Bakterienreich	2
2. Züchtungsmethoden	3
3. Kulturelles und morphologisches Verhalten	3
4. Vorkommen von Bact.bif. und Infektionswege für den Säugling	4
5. Physiologische Eigenschaften im in-vitro-Versuch	5
II. Bifidumflora und Säuglingsorganismus	
1. Mögliche Einflüsse auf die Bifidumflora des Darmes	8
2. Bedeutung der Bifidumvegetation für den kindlichen Organismus	11
III. Bifidogene Nahrungen	13
1. Bifidogene Faktoren der Frauenmilch	14
2. Künstliche bifidogene Nahrungen	15
IV. Indikationsgebiet für bifidogene Nahrungen	17
C. Eigene Untersuchungen	18
I. Material und Methodik	19
1. Erste Untersuchungsgruppe	19
Versuchsbedingungen in der Klinik	
Bakteriologische Untersuchung der Stuhlproben	
2. Zweite Untersuchungsgruppe	21
Versuchsbedingungen in der Klinik	
Bakteriologische Untersuchung der Stuhlproben	
Diagnose und Differentialdiagnose von Bact.bif.	
II. Ergebnisse	22
1. Erste Untersuchungsgruppe	22
Verträglichkeit der Nahrung und klinisches Ver- halten der Kinder	
Bakteriologische Ergebnisse	23
2. Zweite Untersuchungsgruppe	29
Verträglichkeit der Nahrung und klinisches Ver- halten der Kinder	
Bakteriologische Ergebnisse	
III. Diskussion	32
D. Zusammenfassung	36
E. Literaturverzeichnis	39-41

A. Einführung

Die Bifidumforschung blickt heute auf 60 Jahre wechselvoller Geschichte zurück. Seit TISSIER (86) 1900 seine ersten Beobachtungen am Bacterium bifidum der Öffentlichkeit mitteilte, haben viele Forscher die Arbeit langer Jahre diesem Studium gewidmet. Erneut steht das Problem in der Gegenwart zur Diskussion. Mit der verstärkten klinischen Anwendung von Antibiotika treten immer häufiger Schädigungen der natürlichen Darmflora durch Pilze und allergische Reaktionen auf. Damit gewinnt die Betrachtung der physiologischen Vegetation des Darmes über die Kinderheilkunde hinaus auch für die Erwachsenen an Interesse. Das beweisen zwei bedeutende Kongresse der jüngsten Vergangenheit, die Internisten-Tagung in WIESBADEN 1957 und das Internationale Symposium für Säuglingsernährung in BASEL 1956, die sich in ihren Hauptthemen der Darmbakteriologie, besonders der Bifidumforschung zuwandten. Damit hat ein altes pädiatrisches Problem Eingang in die Innere Medizin gefunden.

Im folgenden sei ein Überblick über die derzeitig lebhaft diskutierten Fragen der Bifidumflora, vor allem des künstlich ernährten Säuglings gegeben. Eigene Untersuchungen mit einem neuen, in der Nahrung verabreichten, Bifidum-Wuchsstoff sollen diese Darstellung ergänzen.

B. Aus dem Schrifttum über Bact.bif.

In seiner Bedeutung als physiologischer Keim des Säuglingsdarmes hat Bact.bif. stets Bakteriologen und Pädiater in gleichem Masse interessiert. Deshalb verdient es auch in diesem Zusammenhang, aus der Perspektive beider betrachtet zu werden.

I. Bakteriologie von Bact.bif.

1. Systematische Eingliederung im Bakterienreich

Schon bei der systematischen Einreihung und Benennung dieses Keimes teilen sich die Meinungen. Zum ersten Male ging er als verzweigter Bacillus bifidus communis, von TISSIER (86) be-

schrieben, in die Literatur ein. LEHMANN und NEUMANN (42) setzten Jahre später in ihrer neuen Einteilung der Mikroorganismen die Bezeichnung des nicht sporentragenden *Bacterium bifidum* TISSIER an seine Stelle. Als *Lactobacillus bifidus* (L.bif.) finden wir den Keim nach WEISS u. RETTGER (91), u. BERGEY (13) dem milchsäurebildenden Genus der Laktobazillen zugeordnet, oder ähnlich der Familie der Lacteriobaceae als *Bifidibacterium bifidum* durch ORLA-JENSEN (61). Bakteriologisch korrekter ist die Einstufung nach morphologischen Merkmalen, wie BOVENTER (18), von PLOTHO und ZEISSLER u. KAECKEL (92) sie vornahmen. Nach ihren Angaben gehört Bact.bif. der Gattung der Corynebakterien an, da es ebenfalls Keulen- und Astformen, sowie grampositives Verhalten aufweist und gegenüber Säure mit einem unter 4 liegenden pH-Wert empfindlich ist.

2. Züchtungsmethoden

Es bedurfte vieler Erfahrungen, ehe die kulturellen Züchtungsmethoden den heutigen Stand erreicht hatten. Zwei Faktoren waren dabei vor allem zu beachten: das geeignete Nährmedium selbst und ein anaerobes Milieu. TISSIER gelang die Isolierung des Bakteriums erstmals mit einem einprozentigen Traubenzuckerschüttelagar, auf dem er durch wiederholtes Überimpfen schließlich Reinkulturen erzielte (87). Trotzdem das Verfahren viel Zeit und Mühe kostete, blieb es lange unerreicht. Weder die LÖFFLER-Serum-Platte (18), noch ADAM's Hämatin-Laktose-Nährboden konnten ihm gegenüber entscheidende Vorteile bringen (4). Erst ORLA-JENSEN (18) und BLAUROCK (15, 16) sicherten der kulturellen Bifidumzüchtung durch Verwendung von Cystin bzw. cystin- und leberhaltigen Substraten bessere Erfolge. Diese Substanzen zeichnen sich durch ihre Fähigkeiten aus, die Anreicherung reduzierender Stoffwechselprodukte in der Kultur zu verhindern und so ein einigermaßen konstantes Redox-Potential zu gewährleisten (66). Eine spezifisch wachstumsfördernde Kraft der Lebersubstanzen ist daneben deutlich wahrnehmbar. In jüngster Zeit hat die Einführung vollsynthetischer Nährböden und Medien aus bifidogenen Milchgemischen grosse Fortschritte gebracht (9, 15, 20, 38, 41, 55, 64, 66, 72). Besondere Erwähnung verdient PETUELY's Selektivnährsubstrat, das im Gegensatz zum BLAUROCK-Agar weder Bact.coli noch

andere Keime neben *L.bif.* aufkommen lässt. Sein Gehalt an Ascorbinsäure bedingt jedoch raschen Verlust der Wirksamkeit bei Sauerstoffzutritt und langem Stehen (72).

Von sehr günstigem Einfluss auf das Wachstum erwiesen sich bei der Züchtung Extrakte aus *Bact.prodigiosum*, *E.coli* und anderen gramnegativen Darmkeimen (19). Von amerikanischer Seite wurde Strepogenin besonders gelobt (33), welches sich jedoch nicht in allen Fällen bewähren konnte (66).

Das erforderliche anaerobe Milieu kann in ZEISSLER's Vakuum-Topf (17) oder nach der FORTNER'schen Methode (31) durch Anwesenheit des stark Sauerstoff-zehrenden *Bact.prodigiosum* erzeugt werden. Besser soll sich das Pyrogallol-Pottasche-Verfahren von KOCH erwiesen haben (43, 46).

3. Kulturelles und morphologisches Verhalten

Die auf den Platten wachsenden *Bifidum*-Kolonien geben ein pleomorphes Bild. BLAUROCK (15) und BOVENTER (17) berichten von zwei verschiedenen Kolonientypen, einer glatten, halbkugeligen, weisssglänzenden, saftigen S-Form und einer rauen R-Form, die matt, flach und unregelmässig begrenzt aussieht. Eine dritte Form mit Schleinkapsel wurde beschrieben von MALYOTH und BAUER (45), welche auch die serologische Differenzierungsmöglichkeit aller drei Typen bestätigten. Andere Autoren (MAYER u. MOSER, 53) erkennen diese Typeneinteilung nicht an. Sie machen die jeweiligen Züchtungsbedingungen, wie Feuchtigkeitsgrad, Temperatur, Bebrütungsdauer, Sauerstoffzufuhr, pH-Wert und Zusammensetzung des Nährbodens verantwortlich für die Verschiedenheit der Keime und bestreiten eine serologische Differenzierbarkeit. R-, S- u. M-Typen liessen sich in ihren Untersuchungen ohne Schwierigkeiten ineinander überführen.

Ähnlich dem makroskopischen Bild der Kolonien ist die mikroskopische Erscheinung von *Bact.bif.* sehr vielgestaltig. Eine Beziehung zwischen beiden scheint nicht zu bestehen. - Es handelt sich um unbewegliche Keime mit durchschnittlicher Länge von $2-5\mu$ und einer Dicke von $0,5 - 0,7\mu$ (17), die weder Sporen- noch Gasbildner sind. Eine exakte Typeneinteilung an Hand der beobachteten Stäbchen-, Ast- und Keulenformen, wie mehrere Forscher sie vorschlugen (18, 40), stiess gleichfalls auf den Widerspruch MAYER's (53), der auch in diesem Fall das

morphologische Bild als Funktion äusserer Gegebenheiten betrachtet. Nach BAMBERGER (10) sind darüber hinaus willkürlicher Formenwechsel, Mutationen, Degenerationsprozesse und das Vorliegen von Mischkulturen für die Pleomorphie verantwortlich. Ein Zusammenhang zwischen Erscheinungsbild und Gärungsvermögen der Keime ist nicht auszuschliessen (10, 78). Astbildungen und Keulenformen entwickeln sich in typischer Weise in Kulturen, den frischen Darmkeimen eignet vorzüglich Stäbchenform (18). Daneben vermag der Keim auch in Kokkenform aufzutreten. Sogenannte Volutinkörperchen bedingen das für *Bact.bif.* charakteristische grampositive Verhalten (55). In Bänder-, Körnchen- oder Streifengestalt sind sie dem Bakterienleib eingelagert und verursachen durch Auftreibungen gewellte Konturen. Ihre Deutung hat zu sehr unterschiedlichen Ansichten geführt. ADAM (2) erklärt sie als Plasmolyseerscheinungen, KENDALL u. HAUER (40) sprechen von Vakuolenformen. Die meisten Autoren sehen in ihnen Degenerationsmerkmale, die für alte Kulturen oder ungünstige Verhältnisse zeugen. Die Anwesenheit dieser Einlagerungen scheint vom Milchzuckergehalt des Nährsubstrates abhängig zu sein (18). Da die Granula in Wachstums- und Teilungszonen verlagert sind, vermuten BOVENTER u. BISSET (18) Chromosomenvereinigungen in ihnen. Die Frage bedarf noch eingehender Klärung.

4. Vorkommen von *Bact.bif.* und Infektionswege für den Säugling

Zum ersten Mal wurde *Bact.bif.* im Dickdarm des Brustkindes entdeckt, wo es seinen eigentlichen Standort hat. Die Keime entwickeln hier eine Flora von so auffallender Reinheit (90% des Gesamtkeimgehaltes nach BOVENTER 18), dass der aufmerksame Betrachter an ihrer Bedeutung nicht zweifeln kann. Der Glaube an die besondere Zweckmässigkeit der *Bifidum*flora war es, der der Forschung durch die Jahrzehnte immer neuen Auftrieb gab. In Gesellschaft von *Bact. acidophilum* und *coli*, Streptokokken, Staphylokokken und z.T. auch anderen Keimen findet sich *L.bif.* regelmässig am dritten Tag in den untersten Ileum- und oberen Dickdarmabschnitten des gesunden, mit Muttermilch ernährten Neugeborenen (3, 55). Der obere Dünndarm bleibt dank seiner regen Motilität und Abwehrkraft der Schleimhaut von Keimen weitgehend frei (26). Schon nach fünf Tagen hat *Bact.bif.* die führende Rolle unter den Keimen übernommen. Ausser *Bact.acid.*,

coli und einigen Streptokokken sind alle übrigen Keime aus dem Darm verschwunden. Frühgeborene und Sektio Kinder machen diesbezüglich keine Ausnahme (18, RIES 76, ROUFOGALIS 79). Schwieriger war die Frage nach dem Infektionsweg des Kindes zu beantworten. Bei von Anfang an völlig steril ernährten und gepflegten Brustkindern, sowie einem Kind mit Analatresie (79, 80) wurde Bact.bif. eindeutig im Meconium nachgewiesen. Demnach kann nur die Mutter den Säugling auf oralem Wege infiziert haben. Im mütterlichen Organismus ist Bact.bif. tatsächlich ein häufiger Bewohner von Scheide und Rektum (17, 43), vor allem aber der Brustdrüse (58). Aus ihr geht es mit der Milch, vornehmlich der Kolostralmilch auf das Kind über. Mancher Versuch, den Aufenthalt von Bact.bif. an der weiblichen Brust und in der Milch nachzuweisen, musste an unzureichenden Versuchsbedingungen scheitern, bis es L.MOSER vor einigen Jahren endlich gelang (58). Auch die kulturelle Untersuchung von Kuheutergeräten ergab Anwesenheit von Bifidumkeimen (55). Gramausstriche lassen sogar eine Entwicklung der Bakterien in dessen Zellen vermuten.

Eine orale Aufnahme der Keime aus Vagina und Rektum während der Geburt gilt heute als gesichert, wenngleich der Infektion durch die Muttermilch die grössere Rolle zukommt.

Bald nach MOSER's Entdeckung erbrachte RIES (76) den entscheidenden Beweis für die Ubiquität des Bakteriums in der Aussenwelt (Badewasser, Hände der Pflegerinnen und Wöchnerinnen).

In verschiedener Menge konnten FRISELL u. MAYER (55) den Keim auch bei Flaschenkindern feststellen. HAENEL fand ihn in überwiegender Zahl und ohne Abhängigkeit von der Nahrung auch im Erwachsenenstuhl (35). Bedingt durch die eingeschränkte Magensekretion sinkt die Keimzahl der Laktobazillen im Greisenalter erheblich ab (55).

Im Tierreich erstreckt sich die Verbreitung von Bact.bif. auf säugende Jungtiere wie Hunde, Ratten, Mäuse, Affen und Vögel (18, 55). Aber auch bei ausgewachsenen Tieren kann Bact.bif. die Darmflora besiedeln, wenn sie bifidogene Nahrung zu sich nehmen.

5. Physiologische Eigenschaften von Bact.bif. im in-vitro-Versuch

Um die Wirkungsweise und Bedeutung eines Bakteriums im Organismus erfassen zu können, bedarf es genauer Kenntnisse seiner

physiologischen Eigenschaften. Zu ihrem Studium eignet sich in vieler Hinsicht der in-vitro-Versuch, über dessen Ergebnisse im folgenden zu berichten ist.

Bact.bif. ist fast ausschliesslicher Kohlenhydratspalter (1, 21). Neben R-Milchsäure (daher der Name Laktobazillen) werden bei der Glykolyse hauptsächlich Fettsäuren frei, etwa im Verhältnis der Milchsäure zu Fettsäure wie 1:3. Bei Letzteren handelt es sich grösstenteils um Essigsäure; Propionsäure fällt nur in Spuren an. Mono- und Disaccharide und noch einige Pentosen werden bevorzugt vergoren (78). Dagegen sind höher- und niedrigermolekulare Kohlehydrate kaum von Bedeutung. In der Verwendbarkeit allen voran steht die Laktose, dann folgen Maltose, Nährzucker und an letzter Stelle Saccharose (1). Für β -Laktose besteht, verglichen mit α -Laktose, im in-vitro-Versuch keine Überlegenheit (14). Die Fähigkeit spezifischer Zuckervergärung tritt bei den einzelnen Bifidumarten mit grosser Konstanz auf, ohne durch einen Wechsel der Züchtungsbedingungen oder der einzelnen Phasen (R-, S- oder M-Phase) beeinflusst zu werden (55). Sie rechtfertigt daher besser als die morphologische Erscheinung eine Einteilung in Typen, von welchen sich auf Grund ihres Verhaltens gegenüber Sorbit, Dextrin, Galaktose und Saccharose sowie im serologischen Test (18) vier unterscheiden lassen.

ADAM und THURAU gebührt das besondere Verdienst, die Verhältnisse des Eiweissstoffwechsels für Bact.bif. weitgehend geklärt zu haben (1, 4, 5, 7, 88, 89). Im Vergleich zur Kohlehydrat-spaltung tritt der Eiweissabbau an Bedeutung zurück. Reine Eiweisskörper wie Albumine werden nicht angegriffen. Jedoch üben die beim Eiweissabbau entstehenden Peptonzwischenstufen, vor allem das albumosenartige Molkeneiweiss der Frauenmilch, Caseinpepton und Casein in Form der freien Säure und ihrer Na- und Ca-Salze in niedriger Konzentration einen günstigen Einfluss auf das Wachstum von Bact.bif. aus. MAYER's schöne Ergebnisse bei der Verwendung pepsin- und peptonhaltiger Nährböden für Bifidumkulturen sprechen ganz in diesem Sinne. - Die letzten Spaltprodukte der Eiweisskörper, die Aminosäuren, sind unverwertbar für den Keim und der Bedarf an ihnen daher gering. In weit grösserer Masse als bei Coliflora konnten sie in freier wie gebundener Form chromatographisch bei Bifidum-

flora im Stuhl ermittelt werden. Dem Cystein und Cystin kommt jedoch unter den Aminosäuren, wie schon an anderer Stelle erwähnt, eine wachstumssteigernde Wirkung von geradezu vitaminartigem Charakter auf Bact.bif. zu (14, 15). Laktalbumin, Glykokoll, Leucin, Asparagin und Alanin wirken dagegen hemmend auf dessen Vermehrung. Als guter Stickstoffspender für diesen Keim soll sich Hefe erwiesen haben (88). Die Abbauprodukte von Bact.bif. lassen im Gegensatz zu denen der Colibakterien giftige Substanzen wie Amine, Indol, Phenol oder Schwefelwasserstoff völlig vermissen. ADAM hat für Bact.bif. auch die Fähigkeit der Harnstoffspaltung beschrieben (8).

In noch geringerem Masse nimmt der Fettabbau teil am Stoffwechselgeschehen von Bact.bif., das wie alle Anaerobier zur Fettspaltung wenig geeignet ist (1, 5). Fettkörper der Milch sowie Neutralfette allgemein scheiden bezüglich ihrer Verwendbarkeit für den Keim völlig aus. Triolein und Tributyrin nehmen seine Vermehrungsprozesse stark, ebenso die Calciumhaltigen Seifen. Die Alkalisalze der Öl- und Buttersäure sind dem Stoffwechsel dagegen sehr zuträglich. Für langkettige, gesättigte und ungesättigte freie Fettsäuren wiesen ADAM (1, 2) und GYLLENBERG (32) übereinstimmend eine schädliche Wirkung nach. BRAUN's gute Resultate bei ihrer Verwendung zur kulturellen Züchtung von Bact.bif. stehen dazu allerdings im Gegensatz (20).

Aus der Reihe der Salze und Ionen zeigen Fe^{++} , Fe^{+++} und Ca^{++} eindeutig positive, Ca-Phosphat und $\text{NH}_4(\text{HCO}_3)$ aber nachteilige Wirkung auf das Gedeihen des Keimes (5, 83).

Seitdem die vitaminbildende Tätigkeit von L.bif. bekannt wurde, misst die Wissenschaft diesem noch mehr Bedeutung bei als zuvor. REICHELT (75) entdeckte, dass Bact.bif. in seiner Leibessubstanz Vitamin B₁ und Laktoflavin enthält, sogar mehr als die Hefe. In Zahlen ausgedrückt, finden sich in 1 g Trokensubstanz des Bifidumsedimentes 150γ Laktoflavin, bezogen auf die Leistung von Bact.coli der fünffache Wert. Die physiologische Bedeutung der Vitamine ist in der katalytischen Beeinflussung anaerober Redoxvorgänge zu erblicken (10). Die Vitamin K-Bildung liegt dagegen weit hinter der der Colikeime zurück. 750 bis 1600 Vitamin K-Einheiten bei Bact.coli entsprechen nur 200 Einheiten bei Bact.bif.

Für das fehlende Reduktionsvermögen des Bact.bif. ist die goldgelbe Farbe des Brustkindstuhles der eindrucksvollste Beweis (12, 18). Sie steht in deutlichem Kontrast zum Braun der Flaschenkindstühle. Bei diesen werden das Bilirubin und Biliverdin des Darminhaltes durch Bact.coli und Bact.verrucosus über Sterkobilin und Sterkobilinogen reduziert. Im ersten Falle aber bleibt dem Kot der Gallenfarbstoffgehalt und damit die hellgelbe Farbe unverändert erhalten, da die vorwiegend vorhandenen Bifidumbakterien die Reduktion nicht durchzuführen vermögen.

Der stark betonte Gärungsstoffwechsel von Bact.bif. deutet schon an, dass für diesen Keim das pH-Optimum im sauren Bereich liegt, nach ADAM's Ermittlung zwischen pH 5,0 und 5,8. Im Brustkindstuhl sind für den Keim diese idealen Bedingungen gegeben, was der angenehm säuerliche, aromatische Geruch desselben bereits verrät. Nur bei vorhandenen freien Säuren kann grampositive Substanz in den Bakterienleib eingelagert werden. In Anwesenheit adaequater Nährstoffe ist Bact.bif. in der Lage, seine Eigenwasserstoffzahl selbst zu bilden, sofern sie nicht von vornherein gegeben ist. Ein ursprüngliches pH des Nährsubstrates von 6,5 kann dabei im Verlauf weniger Stunden auf pH 5,5 absinken; erst dann setzt eine rapide Vermehrung der Bakterien ein, und nach ca. 3 Stunden ist im Substrat ein Säureendwert von pH 4,0 bis 4,2 erreicht. Unter pH 5,0 beginnen die Bakterien grösstenteils durch die eigene Stoffwechsel-tätigkeit abzusterben. Die dabei freiwerdenden Fermente erklären die weitere Ansäuerung (2). Die starke Säurebildung der Keime macht es bei Züchtung von Kulturen auch nötig, letztere regelmässig im Abstand von 2 bis 3 Wochen zu überimpfen. In den Faeces hält sich Bact.bif. sogar nur 24 Stunden lebend (18). Die Grenzen möglichen Wachstums dehnen sich in grösseren Bereichen zwischen pH 4,0 und 7,5 aus (2). So wählt man heute zweckmässigerweise Nährböden mit einem Ausgangs-pH von 6,5 bis 7,0, um nicht allzu rasch unphysiologisch tiefe pH-Zonen zu erreichen (17).

Übereinstimmend wird der junge Bifidumkeim als obligater Anaerobier geschildert (2, 15, 18, 73, 92). Ein Sauerstoffpartialdruck von 6 mm Hg, der einem Luftdruck von 30 mm Hg entspricht, hat sich für das Wachstum als optimal erwiesen. Nach

MALYOTH's Vorstellung (48) muss er auf ein vorhandenes Redox-potential abgestimmt sein, das die Oxydations- und Atmungsprozesse in der Kultur in Form der Dehydrierung in Gang hält. Die bestbewährten Methoden, diese Verhältnisse zu schaffen, wurden bereits auf Seite 5 erwähnt. - Ausnahmsweise konnte nach langen Kulturpassagen und degenerativen Veränderungen bei einigen Bifidumstämmen auch aerobes Wachstum beobachtet werden (15). Pepsin-Pepton-Hefewasser-Milch (56) und Vit.C-Zusätze zum Nährsubstrat (90) bewährten sich für diese anaerobe Züchtung gut. Die Bebrütung erfolgt am günstigsten bei 37,5°C, wenn auch die absoluten Wachstumsgrenzen nach oben und unten erst bei 46° und 20°C liegen. Bei 60° Hitze sterben die Keime bereits nach 3 min ab (18).

II. Bifidumflora und Säuglingsorganismus

1. Mögliche Einflüsse auf die Bifidumflora des Darmes

Die Selbstverständlichkeit, mit der ein gesunder, brustgenährter Säugling seine Bifidumflora aufbaut, lässt kaum die vielen Voraussetzungen ahnen, die dazu nötig sind. Bekannte und unbekannte Faktoren vermögen das Bild dieser auffallend reinen Flora zu stören. In besonderem Mass zeigt sich die Bifidumvegetation eines künstlich ernährten Kindes vielen Einflüssen gegenüber labil. Nahrung und Pflege, Infekte und Therapie, ja sogar atmosphärische Verhältnisse scheinen die Beschaffenheit der Bifidumflora zu beeinflussen. Der Ernährung gebührt dabei besondere Beachtung. Sie bestimmt wesentlich Milieu und Bakterienflora des Darmes. In zweifacher Hinsicht regulieren die Abbauprodukte der Nahrung die Zusammensetzung des Keimgehaltes: als Nährsubstanzen und durch die Gestaltung eines bestimmten pH-Wertes. Nicht zuletzt deshalb ist das Kapitel der künstlichen Säuglingsernährung ein zentrales Problem der Pädiatrie. Vergleicht man die Darmflora des gesunden Brustkindes mit der eines Kuhmilchkindes, so ist der Unterschied eklatant und beweist das Gesagte. Der nahezu reinen Bifidumflora des Muttermilchkindes steht eine Mischflora aus Bact.coli, Streptokokken und Aerobacter aerogenes bei Kuhmilchnahrung gegenüber (18). - In umfangreichen Untersuchungen hat ADAM (4, 5) erforscht, weshalb die Muttermilch in ihrer Zusammensetzung dem Stoffwechsel der Bifidumkeime so sehr zusagt, während die Kuhmilch

deren Bedürfnissen kaum entspricht.

Hoher Laktosegehalt (7%) und geringe Eiweissmenge (1,3%) zeichnen die Frauenmilch in erster Linie aus. - Der Dünndarmchymus tritt bei Muttermilchnahrung schon mit einem geringen Säuregrad von pH 6,5, der für Bact.bif. einen günstigen Ausgangswert bei der Ansiedlung bedeutet, in das Colon ein. Das art-eigene Molkeneiweiss der Muttermilch passiert mit grosser Wahrscheinlichkeit schnell und unverändert die Dünndarmwand des Kindes (14); nur ein kleiner Teil des Caseins erreicht an Alkali gebunden das Colon (4, 5) und vermag hier durch geringe Pufferwirkung einer Übersäuerung des Darminhaltes eben vorzubeugen. Auch die aus Neutralfetten abgespaltenen Ölsäuren und minimalen Mengen an Buttersäure gelangen als auf Bact.bif. günstig wirkende Alkalisalze hierher. Infolge der schlechten Laktoseresorption im kindlichen Darm aus Mangel an entsprechenden Fermenten führt der Nahrungsbrei dem Dickdarm in reichlicher Menge Milchzucker zu. Auf solche Weise ergeben sich, wie die in-vitro-Versuche erkennen liessen, für Bact.bif. sehr vorteilhafte Wachstumsbedingungen, während Bact.coli in diesem Milieu nur schlecht gedeihen kann. Welche spezifisch bifidogenen Prinzipien der Frauenmilch darüber hinaus noch zugrundeliegen, soll an anderer Stelle näher betrachtet werden.

So besehen, ist die wenig günstige Wirkung der Kuhmilchernährung auf das Bifidumwachstum leicht zu verstehen. Der Reichtum der Kuhmilch an Eiweiss (3,6%), der für Bact.bif. unverwertbar ist, bietet einen geradezu idealen Nährboden für Coli-keime. Grosse Mengen des Kuhmilchcasein entgehen, als Ca-Salze grob befällt, dem Abbau im Dünndarm und wandern in den Dickdarm. Mit den gleichfalls in beachtlicher Menge gebildeten Ca-Phosphaten verbinden sie sich hier zu unlöslichen Komplexen (1, 2, 3, 4, 5) und sorgen für ein neutrales bis alkalisches Milieu im Darm. Zusätzlich verleihen sie dem Chymus eine beträchtliche Pufferkapazität, die Bact.bif. die Einstellung seiner Eigenwasserstoffzahl sehr erschwert. Bedenkt man ausserdem den relativ niedrigen Laktosegehalt der Kuhmilch von 4,5%, so nimmt das schlechte Gedeihen der Laktobazillen nicht wunder. Vielmehr besiedeln nun Fäulnisbakterien mit alkalischem pH-Optimum, wie E.coli, den Darm. Doch nicht nur normalen Coli-keimen, auch pathogenen Mikroorganismen wie Dyspepsiecoli,

Proteus vulg. u.a. sagen diese Bedingungen zu. Da *Bact.coli* aber nicht die Kraft besitzt, durch Überwuchern deren Eindringen Schranken zu setzen, entbehrt der Säuglingsdarm in der Anwesenheit von Colikeimen jenen natürlichen Schutz der "Selbstreinigung", den ihm die Bifidumflora in so einmaliger Weise gewährt. Leichter als Kinder mit Laktobazillenflora sind kuhmilchernährte Säuglinge deshalb zu Dyspepsien bakterieller Genese disponiert (4). - HAENEL's Untersuchungsergebnisse (35) scheinen einen Einfluss der Nahrung auf die Flora allerdings nicht zu bestätigen. Unabhängig vom Kohlehydrat- oder Eiweissreichtum der verabfolgten Nahrung sah er bei Erwachsenen *Bact. bif.* in gleicher Anzahl wie beim Brustkind. Ein die Bifidumkeime maskierender Stoff im Stuhl des Erwachsenen soll erklären, weshalb ihre Anwesenheit mit dem Mikroskop bisher nicht aufgedeckt werden konnte.

Selbst die beste bifidogene Nahrung führt nicht in jedem Falle zur Ansiedlung von *Bact.bif.* im Darm. Auch ein gutes Gedeihen des Kindes ist dafür Voraussetzung. Schon kleine und klinisch gar nicht fassbare Infekte können das Bifidumwachstum stören, so dass sein Verhalten als feines Kriterium des kindlichen Befindens gerühmt wird (14, 61). Das völlige Fehlen von *Bact. bif.* im Darm eines Muttermilchkindes deutet mit Sicherheit pathologische Prozesse an (9). Oft eilt die Veränderung der Darmvegetation der klinisch manifesten Erkrankung um Tage voraus.

Wie im Falle der Infekte ist auch bei wetter- und pflegebedingten Störungen des Symbioseverhältnisses die Änderung der vegetativen Reaktionslage nach der Ansicht von PATZ (61) und PETUELY (68) eine massgebliche Ursache für die Umstellung der Flora. Vor allem Wetterumbrüche, die mit vertikalen Luftmassenverschiebungen einhergehen, Föhneinbrüche und Schwankungen der Aussentemperatur werden vom Säugling mit einer Änderung der Darmflora beantwortet. Interessanterweise hat PETUELY (68) bei solchem Wechsel in der Wetterlage auch eine spontan auftretende Bifidumflora beobachtet, wenn die Nahrung der Kinder ausreichend Laktose enthielt.

Mit der Einführung der peroralen Antibiotika- und Sulfonamidtherapie ist der Kreis störender Faktoren noch erweitert worden und neue Probleme traten auf. Eine Reihe dieser Chemothe-

rapeutika zerstört nicht nur pathogene, sondern auch physiologische Keime, wie *Bact.bif.* (18, 20, 24, 37, 44, 55).

Von den Sulfonamiden entfalten Supronal, Spirocid und Marfanil die stärkste hemmende Wirkung auf *Bact.bif.*

Als schädliche Antibiotika haben sich nach MAYER's Angaben (55) Aureomycin, Terramycin und Streptomycin mit Penicillin kombiniert erwiesen, während die letzten beiden, isoliert verabreicht, wenig Einfluss ausüben. An Chloramphenicol gewöhnt sich der Keim rasch, weshalb dies als ideale Therapie bakterieller Darmschädigungen empfohlen wird und nach Vernichtung der pathogenen Bakterien den Aufbau einer *Bifidumflora* nicht hindert. Die Ansiedlung von Pilzen und Hefen aber muss auch hier wie bei anderen Mitteln dieser Reihe in Kauf genommen werden (54). Das durch den Einfluss der Antibiotika bedingte Fehlen der antagonistisch wirkenden Bakterien und teilweise die Antibiotika als Stickstoffquelle selbst begünstigen das Wachstum von Pilzen und Hefen (54). Nicht selten resultieren daraus Vitaminmangelercheinungen, da diese Lebewesen als grosse Vitaminverbraucher der Nahrung diese Stoffe entziehen und andererseits die Vitamin-aufbauenden Mikroorganismen unter den Einflüssen der Therapie zugrundegehen.

Der hohe Reinheitsgrad, den seine Flora erreichen kann, zeichnet *Bact.bif.* vor allen anderen Bewohnern des menschlichen Darmes aus (18). Welche Leistung dem Keim ermöglicht, so weitgehend alle Konkurrenten auszuschalten, ist bis heute nicht restlos geklärt. Die Annahme bakterizid wirkender Abwehrstoffe widerlegte BOVENTER (18) durch ausgedehnte Versuchsserien mit bakterienfreier Kulturbrühe im Lochtest. Weder *Bact.coli*, *Proteus vulgaris* oder *Pseudomonas pyocyanea*, noch irgend eine der Kokkenarten werden durch Hemmstoffe in ihrem Wachstum zurückgedrängt. - Auch den im Stoffwechselprozess von *Bact.bif.* freiwerdenden Säuren kann dieser Effekt nur für Bakterien mit alkalischem pH-Optimum zugesprochen werden (57, 67). Für die azidophilen Enterokokken und Streptokokken können sie kein Hindernis bedeuten. Treten diese Keime dennoch bei *Bifidumflora* in den Hintergrund, so muss die Ursache in einer alles überflügelnden Wachstumstendenz von *Bact.bif.* selbst liegen. Sie ist der Ausdruck günstiger Ernährungsverhältnisse, wie sie in klassischer Weise die Frauenmilch bietet, aber auch von künstlichen bifidogenen Nahrungen bekannt ist (14, 70).

Für das Zusammenleben mit *L.bif.* eignen sich nur wenige Keime, wie *L.acid.* und *Streptococcus lactis* (4, 57). Durch Bereitung eines anaeroben, aziden Milieus fördern sie seine Vermehrung, ohne selbst in den Vordergrund zu treten. *Bact.coli* findet sich bei *Bifidumflora* nur in kleiner Zahl, auch darmfremde und toxische Keime, wie *Proteus vulgaris*, Pneumokokken u.a. kommen aus eigener Kraft so gut wie gar nicht auf (52). Nur im Falle funktioneller Darmstörungen kann *Bact.bif.* - über den Mechanismus gesteigerter Pufferkapazität des Chymus durch vermehrte Darmsekrete - seine Vorrangstellung nicht mehr behaupten.

Gegenüber den Eiern von Eingeweidewürmern der Maus entfaltet *Bact.bif.* nach Angaben von THURET u. THIBAUT (18) unverkennbar antiparasitäre Wirkung. Unter der Behandlung wurmkranker Mäuse mit *Bifidumklistieren* verschwanden die Eier innerhalb weniger Tage aus dem Kot.

2. Bedeutung der *Bifidum*vegetation für den kindlichen Organismus

Die Darmflora ist in ihrer Beschaffenheit nicht nur passiv vom Einfluss zahlreicher innerer und äusserer Faktoren abhängig. Vielmehr steht sie - von sich aus zu aktiver Leistung fähig - mit dem Darm in reger Wechselwirkung. Aus dem Auftreten von *Bact.bif.* im Brustmilchstuhl schlossen viele Pädiater (ADAM 1, BESSAU 14, MAYER 57, von PLOTHO 73) auf eine besondere Bedeutung dieses Keimes für das optimale Gedeihen des Säuglings.

Allerdings vermag das Muttermilchkind nicht absolut hiervon zu überzeugen; denn sein vorzügliches Gedeihen kann ebenso wohl auf die grossartige Anpassung der Muttermilch an die Bedürfnisse des Kindes zurückgeführt werden (55). Klarer konnten ADAM, BESSAU u. J.B.MAYER durch jahrzentelange Studien mit künstlichen, bifidogenen Nahrungsgemischen bestätigen, dass das Vorhandensein von *Bact.bif.* im Darm für die körperliche Entwicklung des Kindes von Vorteil sein kann. - Die früher angenommene Pathogenität von *Bact.bif.* wird heute jedenfalls allgemein in Abrede gestellt. Bei *Bifiduminjektionen* an Tieren erhielt BOVENTER (18) eindeutig negative Resultate. Auch die Behauptung, *Bact.bif.* sei durch seine Milchsäurebildung an der Entstehung der Zahnkaries beteiligt

(85), konnte trotz verbesserter Arbeitstechnik in letzter Zeit nicht aufrecht erhalten werden. Vielmehr zählt Bact.bif. heute zu den physiologischen Keimen des Organismus, die dem Kind von Natur aus mitgegeben sind. Entsprechend den Untersuchungen ADAM's ist es die entscheidende Funktion dieses Keimes, den Darm des Säuglings prophylaktisch vor der Invasion unphysiologischer und insbesondere pathogener Bakterien zu schützen. Dagegen kann eine Coliflora, d.h. das starke Überwiegen von Colibakterien im Darm, für das Kind eine Streuquelle allgemeiner Coliinfektionen darstellen. Dies gilt sowohl für extraenterale Erkrankungen, besonders des Urogenitaltraktes, als vor allem auch des Darmes selbst. Denn durch Anpassung normaler Colibakterien an ungünstige Darmverhältnisse können sich hier nach Angaben von BAUMGÄRTEL (12) u. MAYER (57) Dyspepsiecoli entwickeln, die durch pathogene Eigenschaften ausgezeichnet sind und ein ausgeprägtes Invasionsstreben in den normalerweise colifreien Dünndarm zeigen.

Entsprechend den in-vitro-Test-Ergebnissen vermag Bact.bif. dem Organismus im Vergleich zu Colikeimen noch weitere Vorteile zu bieten. Da Peptone u.a. Eiweißspaltprodukte seinen Stoffwechsel anregen, unterliegen diese Substanzen bei Bifidumflora im Dickdarm einem weitgehenden Abbau in Aminosäuren (88). Im Gegensatz zum Aminosäureverbrauch einer Coliflora sind jedoch hier die entstehenden Aminosäuren in vollem Ausmass dem Organismus zur Resorption überlassen. Die optimale Ausnutzung des Eiweißgehaltes der Nahrung kommt vor allem den mit Muttermilch und Dünnmilch ernährten Kindern zugute, denen Eiweiß nur in knapp bemessenen Mengen zugeführt wird. Keinesfalls droht die Gefahr einer Endotoxinschädigung, wie sie bei Colibesiedlung gelegentlich auftritt und mit Durchfällen einhergeht (8), da weder Amine noch andere giftige Stoffe im Darm gebildet werden. Auch die gute Verträglichkeit hohen Fettgehaltes ist eine wesentliche Leistung der aziden Flora. Durch die Funktion des Magens einerseits und die der Bifidumvegetation andererseits ist eine pH-Isoionie, d.h. eine gleichbleibend saure Reaktion des gesamten Darmes, gewährleistet. Sie schützt den fettreichen Dünndarmchymus gegen die unphysiologischen Keime, die in diesem einen sehr günstigen Nährboden finden würden (5, 6, 60). - Die Ca-Resorption des Dickdarmes erfährt in Anwesen-

heit der Bifidumkeime eine Steigerung, was die auffallend seltene Erkrankung brustgenährter Kinder an Rachitis zu beweisen scheint, zumal die Muttermilch über keinen sehr hohen Ca-Gehalt verfügt. Möglicherweise erklärt sich diese Wirkung durch die bakterielle Vitamin B-Synthese, da nach EHRENBURG (25) orale Gaben von Vitamin B eine vermehrte Aufnahme schwerlöslicher Kalksalze durch den Dickdarm bewirken (55).

Inwieweit sich der Säugling den Vitaminreichtum der Bakterien erschliessen kann, ist noch umstritten. Während die Fixation der B-Vitamine an die Bakterienzelle und das störungsfreie Gedeihen keimfrei-ernährter Tiere (27) gegen eine Resorption sprechen, sehen einige Autoren in diesem Vitaminangebot einen verwertbaren Ausgleich des Muttermilchdefizites und eine wenigstens teilweise Erklärung für die Resistenz-erhöhende und Gedeih-fördernde Wirkung der Bifidumvegetation (84). STEPP's Bilanzversuche des Vitaminhaushaltes beim Säugling stützen die letztere Ansicht.

Diese Überlegungen führen zu der Auffassung, dass L.bif. für den Säugling mehr bedeutet als einen apathogenen Keim und mehr als nur einen Indikator für das Wohlergehen des Kindes. Nach seinen biologischen Leistungen bewertet, kommt ihm eine positive Funktion im Stoffwechselgeschehen des Wirtsorganismus und die Bedeutung wertvollen Darmschutzes gegenüber fremden Keimen zu. Mit Recht ist Bact.bif. einer Coliflora in mancher Hinsicht vorzuziehen. - Gleichwohl kann sich der Säugling auch ohne seine Anwesenheit gut entwickeln, denn die im Dickdarm, dem eigentlichen Aktionsfeld für Bact.bif., ablaufenden Vorgänge sind infolge zu geringer Resorptions- und Sekretions-tätigkeit im allgemeinen nicht von ausschlaggebender Bedeutung für den Organismus (55, 57).

III. Bifidogene Nahrungen

1. Bifidogene Faktoren der Frauenmilch

Der Versuch, das spezifisch bifidogene Prinzip der Frauenmilch zu ergründen, ist beinahe so alt wie die Bifidumforschung selbst (55). Viele Wege wurden beschritten und die verschiedensten Resultate erzielt. Neben Stimmen, die die Wirkung einem einzigen Faktor zuschrieben (68, 82), erhoben sich andere, um für einen mehr komplexen Charakter des Phänomens einzutreten (4). -

Die ersten systematischen Untersuchungen von SCHÖNFELD liessen einen unbekannten, vitaminartigen Faktor (82) im eiweissfreien Molkenrest der Frauenmilch vermuten, dessen endgültiger Nachweis aber nie erbracht werden konnte.

MALYOTH, PETUELY, KUHN u. GYÖRGY erforschten vor allem die Zuckerfraktion der Milch.

So gelangte MALYOTH (44) zur Theorie von der spezifisch bifidogenen Wirkung der körpernen β -Laktose. Diese soll nach dem Prinzip selektiver Resorption von Isomeren im Darm anders als die α -Laktose verwendet werden. Gewisse Stabilisierungskörper in der Milch, besonders höhere Zucker mit kolloidalen Eigenschaften, sollen das Gleichgewicht beider Isomere, zugunsten der β -Laktose verschoben, aufrechterhalten (47, 48, 49). Die Bedeutung der β -Laktose ist indes heute noch umstritten (14, 34, 51).

PETUELY gelang 1950 der Nachweis eines spezifischen Bifidumfaktors in der Frauenmilch (68). Mit diesem Faktor ist die β -Galaktosido-Fructose, auch Laktulose genannt, vermutlich verwandt (65). Sie wirkt ebenfalls stark bifidogen, trägt vitaminartigen Charakter und wurde von PETUELY durch Behandlung von Laktose mit Alkali erstmals synthetisiert. Da die Laktulose im in-vitro-Test unwirksam bleibt, erklärt PETUELY die Erzeugung der Bifidumvegetation durch ihre Wirkung auf die Darmwand. Diese soll in einen Zustand der Bifidumbereitschaft versetzt werden und, unterstützt durch geeignete Nahrung, eine üppige Bifidum-Flora aufbauen. Der Faktor der Muttermilch selbst erweist sich nur im frischen Zustand als hochwirksam und leidet schon unter längerem Stehen und Kochen. - Neue Perspektiven eröffneten GYÖRGY's und KUHN's Ergebnisse (30) der Bifidumforschung. GYÖRGY isolierte aus Brustmilchstuhl eine Bifidummutante, die nur auf frauenmilchhaltigem Nährsubstrat gedieh, den sog. L.bif. var. Pennsylvaniae. Morphologisch gleicht der Keim normalen, stäbchenförmigen Bifidumbakterien. Serologisch ist er deutlich von ihnen abzugrenzen. Falls keine Muttermilchsubstanz im Nährsubstrat enthalten ist, gehen die Bakterien dieses Stammes gewöhnlich zugrunde. Einzelnen Keimen jedoch gelingt es, sich durch Mutation den ungünstigen Lebensbedingungen anzupassen und auch ohne Frauenmilch zu wachsen. Diese abgewandelten Formen über-

wiegen nach GYÖRGY in frauenmilchfreien Nährböden und erklären, weshalb die im Darm hauptsächlich vorkommende Pennmutante der Entdeckung so lange entging (77). Dieser Auffassung steht PETUELY allerdings kritisch gegenüber (69a). Er misst dem L. bif. var. Penn. als Besiedler des kindlichen Darmes und damit dessen spezifisch bifidogenem Prinzip in der Muttermilch eine untergeordnete Bedeutung zu. GYÖRGY u. KUHN konnten diesen Wuchsstoff isolieren (28, 29, 31, 41, 71). Seine chemische Identifizierung ergab N-haltige Oligosaccharide, denen als wesentlicher Baustein das N-Acetyl-Glucosamin zugrundeliegt. Für den Abbau dieser Substanz finden sich in den Bakterien der Pennmutante spezifische Enzyme. Andere Stämme sprechen auf den Wuchsstoff nicht an. Kolostrum, Muttermilch, Meconium, Sperma, Cervixschleim, Magensaft, Speichel, Harn, Tränenflüssigkeit, Fruchtwasser und Leber enthalten diese Stoffe in abnehmender Konzentration. Zu den wasserlöslichen Blutgruppenpolysacchariden der Gruppen A u. B, die ebenfalls wirksam sind, besteht auffallend enge Beziehung. Zwei Tatsachen erscheinen in diesem Zusammenhang bemerkenswert: 1. dass der Krebsbefall der Organe in seiner Häufigkeit annähernd die gleiche Reihenfolge einhält wie die Verteilung des bifidogenen Wuchsstoffes, und 2. dass Verbindungen vom Typ N-haltiger Polysaccharide den Ausbruch von Viruskrankheiten verzögern können.

In jüngster Vergangenheit wurde das Problem auf völlig neuen Bahnen angegangen. KECK u. GOETH (38) gelang es, auch für die Lipoidfraktion der Muttermilch bifidogene Wirkung nachzuweisen. Sie gingen in ihren Untersuchungen aus von der Frage nach dem bifidogenen Faktor der Leber, dem der BLAUROCK-Agar (16) in erster Linie seine besondere Eignung für die Bifidumzüchtung verdankt. Wassrige und mit organischen Lösungsmitteln hergestellte Leberauszüge wurden auf ihre wachstumsfördernde Wirkung geprüft, die man in hohem Masse den Letzteren zuerkennen musste. Verantwortlich ist dafür ihr Reichtum an Phosphatiden, also Körpern der Lipoidklasse, reine Phosphatide vom Typ des Lecithins, Cephalins und der Phosphatidsäuren fördern noch in Mengen von 1 γ /ccm flüssigen Nährbodens, also in extrem hoher Verdünnung schon innerhalb 24 Stunden ganz deutlich das Wachstum von L.bif. Sie finden sich in pflanzlichem und tierischem Material, neben Leber in Eigelb und in der Frauen-

milch. Entsprechende, gesättigte Verbindungen und Cholesterin entfalten dagegen hemmende Wirkung. In-vitro-Versuche, am GY-ÖRGY'schen Nährmedium 31a bei pH 5,7 und einer Bebrütungszeit von 24 Stunden durchgeführt, ergaben folgende Resultate (39):

Zusätze zur Nährlösung	Verbrauch n/10 NaOH auf 1 ccm der bebrüteten Nährlösung
ohne Zusatz	0,5 ccm
100 γ Wachsstoff/ccm	9,2 ccm
10 γ "	8,0 ccm
1 γ "	1,6 ccm
100 γ Hydrolezithin	0 ccm

Als Masstab für die wachstumsfördernde Wirkung der Phosphatide verwandte man jeweils die von L.bif. gebildete Säure, bzw. die zu ihrer Neutralisation nötige Menge n/10 NaOH. - Zum Zwecke eines Vergleiches wurden in demselben Nährboden mit Phosphatidzusatz verschiedene Zuckerarten auf ihre Verwendbarkeit für Kulturen getestet. Für Laktose lag die Menge n/10 NaOH mit 7,6 ccm gegenüber 6,2 ccm bei Alete-Nährzucker und 4,8 ccm bei Maltose an höchster Stelle. Laktose scheint demnach nicht allein wegen der schlechten Resorbierbarkeit im kindlichen Darm, sondern auf Grund besonderer Eignung für den Stoffwechsel von Bact.bif. so günstig zu wirken. Bezüglich des Alete-Nährzuckers stimmen die Ergebnisse des in-vitro-Testes nicht mit denen des in-vivo-Versuches überein, wie die weiter unten beschriebenen, eigenen Untersuchungen ergaben.

Auf welche Weise die Phosphatidkörper in diesen Stoffwechsel eingreifen, ist vorerst noch ungeklärt. Vermutlich darf man ihnen wuchsstoffartige Wirkung auf das Bakterium zusprechen. Vor Luftzutritt müssen sie streng geschützt werden, da die ungesättigten Fettsäuren gegenüber Sauerstoff empfindlich sind und an Wirkungskraft verlieren. Gegen Hitze zeigen sie sich beständig.

2. Künstliche bifidogene Nahrungen

Stets hat die vorbildliche Entwicklung des mit Muttermilch ernährten Bifidumkindes den Pädiater angespornt, in gleicher Weise künstlich ernährten Säuglingen den Vorteil einer Bifidum-

flora zu vermitteln. Durch viele Kunstgriffe wurde versucht, auch mit Kuhmilchernahrung den Bedürfnissen von Bact.bif. gerecht zu werden. Das Verhalten des Keimes als Indikator (9) des kindlichen Gedeihens diente der Herstellung und Beurteilung zahlreicher Säuglingsnahrungen zum Kriterium (14, 5). Dem Vorbild der Muttermilch danken wir manch wertvollen Hinweis in dieser Entwicklung. Gross war die Zahl der Pioniere und viele Wege wurden beschritten.

In Anwendung seiner Erkenntnisse am in-vitro-Test versuchte ADAM, den schädlichen Gehalt der Kuhmilch an Ca, Phosphor und Eiweiss durch Fällung der Salze und Verdünnung der Milch herabzusetzen, und den Ca-Phosphor-Caseinkomplex zu spalten. Diese Manipulationen erwiesen sich für die Praxis jedoch als undurchführbar. Mehr Zustimmung fanden seine dextrin- und cystinhaltingen Laktana- und Butamyl-Nahrungen, beides 2/3-Milchen. Dextrin ist vor allem für Bact.coli schwer angreifbar, während die bei seinem Abbau entstehende Maltose stark bifidogene Wirkung entfaltet (4, 5).

MALYOTH verabreichte seine B-Laktose in Form der Alete-Frühnahrung, die zur leichteren Verträglichkeit ebenfalls verdünnt ist, und erzielte damit gute Erfolge (24, 74, 81). - Grosse Sorgfalt hat auch BESSAU dem Problem bifidogener Nahrungen gewidmet (14). Ausgehend von einer 2/5-Milch erleichterte er durch Labung und Säuerung der Nahrung dem kindlichen Magen die Eiweissverdauung. Um für Bact.bif. ein geeignetes Dickdarmmilieu zu schaffen, verzögerte er durch Karamellisieren die Resorption des Milchzuckers, den er in einer Konzentration bis zu 10% zusetzte. Als spezifische Wachstumsfaktoren für Bact.bif. enthält seine Milch p-Aminobenzoessäure und l-Cystin. Den Fettbedarf des Kindes decken homogenisierte Butter und Olivenöl. Obwohl die BESSAU-Nahrung in nahezu konstanter Weise schon nach wenigen Tagen eine überwiegende Bifidumflora hervorruft und durchschnittlich gut vertragen wird, zeigt sie doch in einigen Fällen die Nachteile einer eiweissarmen, milchzuckerreichen Dünnmilch. Nicht immer kann sie den Säugling vor Durchfällen bewahren, der aus Eiweissmangel das Wasser nicht fest genug ans Gewebe zu binden vermag. Diese Erfahrungen sollen davor warnen, die Bifidumflora als einziges Kriterium für die Güte einer Frauenmilchersatznahrung zu

zu betrachten (18, 65).

Der PETUELY'sche Faktor vermag gleichfalls, als Zusatz verdünnter Kuhmilch innerhalb von 24-96 Stunden die Darmflora umzustimmen. Als Voraussetzung dazu bedarf er eines minimalen Laktose-Eiweiss-Quotienten der Milch von 2,5, d.h. der Eiweissgehalt der Nahrung darf entsprechend seiner geringeren Verwertbarkeit im Bifidumstoffwechsel 40% des Laktosewertes nicht überschreiten. Der Wuchsstoff entfaltet in einer Konzentration von 6-8 g/l Milch seine Wirksamkeit (68).

Einen neuen Weg schlägt MAYER mit der Verabreichung bifidumhaltiger Milch ein (52, 55, 57). In einer Konzentration von 5-10% beimpft er sterile Milch mit Bifidumreinkulturen und setzt ihr neben 5% Milchwucker als Wachstoffs Hefewasser, Pepton und Pepsin zu. Nach einer 22-stündigen Bebrütung bei 37°C ist die Milch trinkfertig. Seine bisherigen Erfahrungen mit der neuen Nahrung sind sehr gut.

Die ähnlich beschaffene Eugalon-Diät-Nahrung führt auch beim Erwachsenen zu einer ausreichenden Bifidumflora im Darm. Zusätze von Honig, Eigelb und Obst, welche auch von sich aus das Bifidumwachstum begünstigen, erhöhen den bifidumfördernden Effekt dieser Milch noch weiterhin.

Die Entdeckung von KECK u. GOETH, dass ungesättigte Phosphatide im in-vitro-Test bifidogene Wirkung entfalten, regte zur Erprobung dieser Substanzen auch in vivo an. In Form des Präparates TN 36-B1 wurden sie im Tierversuch an Albinoratten verfüttert und liessen eine gewisse Förderung des Bifidumwachstums im Darm erkennen. Die Versuchstiere nahmen in einem Zeitraum von 6 Wochen um 197% ihres Ausgangsgewichtes zu, während in der Kontrollgruppe das Gewicht nur um 152% anstieg. Vor allem konnte an frisch von der Mutter abgesetzten Tieren unter Wachstoffs einfluss ein wesentlich besseres Gedeihen beobachtet werden als ohne Wuchsstoff. Bei den kleinen Dosen des verabreichten Präparates ist dieses Ergebnis nur aus der Spezifität seiner Wirkung, nicht aber aus seinem Nährwert zu erklären, der sehr gering ist.

Bakteriologisch war bei Versuchs- und Kontrolltieren nach Beginn der Milchfütterung eine Zunahme der grampositiven Keime von vorher 40% auf 60-70% der gesamten Flora zu verfolgen. Darunter fanden sich entsprechend kulturellem Nachweis 10-15%

bifidumverdächtige Bakterien in der Versuchsgruppe, während die Kontrollreihe davon nur 1-2% aufwies.

Unter welchen Bedingungen TN 36-Bi am menschlichen Säugling erprobt wurde, und mit welchem Ergebnis, wird in Abschnitt C ausführlich dargelegt werden.

IV. Indikationsgebiet für bifidogene Nahrungen

Eines der wesentlichsten Ziele der Bifidumforschung ist die Herstellung einer Säuglingsnahrung, welche durch ihre bifidumfördernden Eigenschaften sowohl dem gesunden als vor allem auch dem kranken Säugling zugutekommen soll. Die antibiotische Behandlung durch Dyspepsie-Coli verursachter Darmkrankheiten hat nur bei nachfolgender Besiedlung des Darmes mit Bact.bif. Aussicht auf rezidivfreie Heilung (63a). Auch in der so undankbaren Behandlung zoeliakiekranker Kinder kann die bifidogene Nahrung dank ihres florumstimmenden Effektes und der unschädlichen Abbauprodukte wertvolle Hilfe leisten. Das Problem chronischer Obstipationen bei grossen Kindern wie Erwachsenen wird ebenfalls von dieser Seite aus erfolgreich angegangen. Schon 60 bis 80% Bifidumkeime in der Flora vermögen eine Normalisierung der Peristaltik anzubahnen (53). Noch mehr hat sich das Indikationsgebiet geweitet, seitdem die Antibiotikaschäden auftreten. Soorkrankheit, Stomatitis, Glossitis, schwarze Haarzunge, Perlèche, Diarrhoen und Pruritus ani et vulvae seien hier vor allem genannt (54, 93). Antibiotische Vorbereitungen von Darmoperationen züchten zuweilen resistente Erreger heran, die durch choleraähnliche Diarrhoen und Enteritiden in unangenehmer Weise den Heilungsprozess komplizieren. Als physiologischer Keim könnte Bact.bif. in allen diesen Fällen seine wertvollen Eigenschaften auch dem Erwachsenen zur Verfügung stellen. Besser vielleicht als Sterilisation des Darmes und ohne Resistenzzüchtung könnte seine Ansiedlung der Vorbereitung von Darmoperationen dienen. Pilze und Hefen würden aus dem Bild der Darmflora verschwinden, (54). In vorbildlicher Weise ist es MAYER (53) beim Säugling gelungen, mit Bifidummilch keine Antibiotikaschäden im Sinne eines Vitaminmangels, einer Keimarmut des Darmes oder resistenter Keime aufkommen zu lassen. - Die Bifidumtherapie der Colitis ulcerosa hat am Erwachsenen bereits positive Resultate gezei-

tigt. - Wenn nach alter Erfahrung Magen- und Darmentzündungen sowie Erkrankungen der Leber auf eine Milch-Kohlenhydrat-Diät gut ansprechen, ist dies nicht zuletzt auf den steigenden Bifidumgehalt der Darmflora zurückzuführen. Erhohter innerer Infektschutz und Verminderung der Fäulnisprozesse sorgen dabei für eine Schonung der kranken Organe. Ein letztes grosses Gebiet, auf dem die Therapie mit Bact.bif. segensreiche Wirkung entfalten konnte, ist das allergischer Erscheinungen. In steigendem Masse erkranken Atemwege, Haut u.a. Organe auf allergischer Basis, ohne dass sich die Ursache hierfür in jedem Falle klären liesse. Eine Sensibilisierung des Organismus durch Dysbakterie des Darmes wird heute vielfach in Betracht gezogen.

Planmässig durchgeführte Kuren mit Verabfolgung lebender Coli-keime, Enterokokken oder Bact.acidophilum (50, 59, 93) sollen zur Auffrischung der Darmflora dienen. Bact.bif. fehlt noch immer in ihrer Reihe, obwohl gerade dieser apathogene, ja eubiotische Keim dem Organismus viele Vorteile zu bieten vermöchte. Doch liess der letzte Internistenkongress 1957 schon deutlich eine Entwicklung in dieser Richtung erkennen (21).

Nach 60-jähriger Geschichte ist für Bact.bif. damit die Aussicht eröffnet, den einstmals engen, pädiatrischen Aufgabenkreis zu einem grösseren Aktionsbereich zu weiten und damit neue Bedeutung zu erlangen.

C. Eigene Untersuchungen

Um einen Beitrag zum Problem der Bifidumflora beim künstlich ernährten Säugling zu leisten, soll im folgenden über eigene Untersuchungen berichtet werden. In Form des Milchezsatz-Präparates TN 36-Bi*/ wurden hierbei ungesättigte Phosphatide an insgesamt 62 Kindern während zweier Untersuchungsgänge auf Verträglichkeit und bifidogene Wirkung geprüft.

I. Material und Methodik

1. Erste Untersuchungsgruppe

Der erste Untersuchungsgang wurde an 27 kranken Kindern der Münchner Poliklinik durchgeführt. Davon standen 16 Kinder im

*/ Von der Fa. Dr. Karl THOMAE freundlicherweise zur Verfügung gestellt

Versuch, die 11 anderen dienten als Kontrollen.

Die Versuchsgruppe umfasste Säuglinge von einem Tag bis zu 7 1/2 Monaten, darunter 4 Frühgeborene. Auch von den Kontrollkindern waren 3 frühgeboren, und 3 bis zu 6 Wochen alt, während die übrigen bereits ein bis zwei Jahre zählten. Entsprechend dem Alter war auch die Ernährung der einzelnen Kinder verschieden. Die bis zu 3 Monate alten Säuglinge bekamen Eledon- oder 2/3-Nestle-Milch. Für die Älteren wurde der Milch in kleinen Mengen Gemüse zugesetzt, und von 5 Monaten an erhielten die Säuglinge meist 2/3-Citrettenmilch mit Gemüse und Morobrei. Die ein- bis zwei-Jährigen wurden mit der sog. "Wackerlkost" ernährt, die zu gleichen Teilen aus Griess-, Obst- und Morobrei sowie Gemüse bestand. Zwei Zwillingskindern der Kontrollreihe wurde vergleichshalber Frauenmilch bzw. Butterschmelze gegeben.

Während des Versuches erhielt die Milch 3% TN 36-Bi zugesetzt. In je 100 ccm Milch nahmen die Versuchskinder dabei 3 g Laktose, 0,1 g Phosphatide und soviel Vitamin C und Cystin auf, dass das Defizit einer 2/3-Kuhmilch gegenüber der Muttermilch ausgeglichen war. In der Nahrung der Kontrollkinder entsprach dem Wuchsstoff eine isokalorische Menge von 3% Nähr- oder Traubenzucker. Die Küchenschwester bereitete schon morgens die Tagesgesamtmenge der Milch vor und schlug den Wuchsstoff bei einer Temperatur von ca. 25° ein. Wiederholte Kontrolluntersuchungen konnten die Sterilität der Nahrung und des Wuchsstoffes bestätigen. Dem Versuch selbst ging bei den meisten Kindern eine 5-tägige Vorperiode voran, während der 2 Stuhluntersuchungen zur Orientierung über die individuelle Beschaffenheit der Darmflora durchgeführt wurden. In der Hauptperiode erfolgte die Stuhluntersuchung möglichst jeden Tag für alle Kinder. Es kamen nur Stuhlproben zur Verwendung, die nicht älter als 14 Stunden waren.

Das klinische Befinden der Säuglinge wurde während der gesamten Versuchszeit in Kurven täglich festgehalten. Am Schluss dieses Abschnittes seien auf Tab.I das Alter, der Gewichtsverlauf, die Ernährung mit dem Laktose-Eiweiss-Quotienten, d.h. dem Verhältnis des Laktosegehaltes der Nahrung zur vorhandenen Eiweissmenge, sowie die Krankheitsdiagnosen der Kinder in übersichtlicher Weise zusammengefasst.

Die bakteriologische Untersuchung begann jeweils mit der makroskopischen Beurteilung der Proben in Bezug auf Farbe, Konsistenz

und Geruch. Das pH-Papier von Merck (95) diente zur Ermittlung der Reaktion des Stuhles. Dann folgte die Herstellung der Stuhlverdünnungen in steriler, physiologischer NaCl-Lösung. 20 mg Kot (erfahrungsgemäss eine Öse mit ca 4 mm Durchmesser gestrichen voll) in 2 ccm Lösung suspendiert, ergaben die Verdünnung 10^{-2} , von der aus je Stuhlprobe eine Verdünnungsreihe mit den Stufen 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} und 10^{-9} angelegt wurde. Möglichst häufiges Wechseln der Pipetten sollte allzu grosser Keimverschleppung vorbeugen. Für die Kulturen der Laktobazillen kamen nur flüssige Nährmedien im Reagensglas zur Anwendung, die sich in Vorversuchen bereits gut bewährt hatten. Teilweise handelte es sich um eine Modifikation des Cystin-BLAUROCK-Nährbodens 16, bei der kein Agar zugesetzt war. Je ein Röhrchen dieser BLAUROCK-Bouillon wurde unter sterilen Kautelen mit einem Tropfen (= 0,05 ccm) der 10^{-2} - bzw. 10^{-6} -Verdünnung beimpft. Für die Kulturen aus den Verdünnungen 10^{-7} bis 10^{-9} setzte man der BLAUROCK-Bouillon ein Drittel rohen Leberbrei zu. Hierdurch stand den Bakterien in höherem Masse der Reichtum der Leber an wachstumsfördernden Stoffen 38 und Redoxsystemen zur Verfügung. Der PETUELY'sche Selektivnährboden 72 eignete sich für Reihenuntersuchungen dieser Art nicht, da er, wie schon erwähnt, von nur begrenzter Haltbarkeit ist. Er lässt keine serienweise Herstellung und anschliessende Lagerung zu, wie sie bei umfangreichen Untersuchungen unerlässlich sind.

Zur Ermittlung anwesender Colikeime und ihrer Anzahl in der Verdünnung 10^{-6} wurden GASSNER-Platten mit je einem Tropfen dieser Verdünnung beimpft. Die gewöhnliche Nähragarplatte zeigte, mit einer Öse der 10^{-2} -Verdünnung bestrichen, ausser *Bact.coli* und Streptokokken vor allem das Vorkommen von *Proteus vulgaris* an. - Besondere Beachtung fanden auch die *Candida*-Arten der Hefen. Für ihre Züchtung eigneten sich vorzüglich flüssige Nährböden aus rohen, kleingeschnittenen Kartoffelstückchen in stark salzsaurer NaCl-Lösung, in denen bei einem pH von 2 kein Wachstum von Bakterien aufkommen konnte (76b).

Die beimpften Kartoffelröhrchen, Agar- und GASSNER-Platten standen bis zur Auswertung bei einer Temperatur von 37°C 24 Stunden im Brutschrank. *L.bif.* verlangte dagegen eine Bebrütung von 48 Stunden, um optimal wachsen zu können. Der ZEISSLER-Topf erwies sich, mit leichtem Unterdruck und zusätzlich CO_2 -Füllung versehen, für die Erzeugung anaeroben Milieus als sehr vorteilhaft.

Zwar vermögen Kulturen recht guten Aufschluss über die verschiedenen Arten vorhandener Keime zu geben, aber deren quantitative Relationen zueinander gehen daraus nicht hervor. Denn die abgestorbenen Keime können in der Kultur nicht mehr erfasst werden. Hierfür leistete die mikroskopische Beurteilung der Nativpräparate im Phasenkontrastverfahren und der gramgefärbten Stuhlausstriche wertvolle Dienste. Die zahlenmässigen Anteile verschiedener Keimarten wurden jeweils in mehreren Gesichtsfeldern geschätzt. Die Ergebnisse beider Methoden, der kulturellen wie der mikroskopischen, haben einander in nützlicher Weise ergänzt und gesichert.

Bei der Untersuchung des kulturellen Wachstums in der BLAUROCK-Bouillon interessierte an erster Stelle die Änderung der Reaktion des Mediums gegenüber dem Ausgangs-pH (zwischen 6, 1 und 6,6). Sie wurden mit LYPHAN-Streifen (94) ermittelt. Die mikroskopische Betrachtung je eines Tropfens der Kulturbrühe gab weiterhin Aufschluss über ihren Gehalt an Keimen.

Auf den Agarplatten wurden nur makroskopisch die Kolonien der verschiedenen Keimarten und ihr zahlenmässiges Auftreten geprüft. Die Colikolonien der GASSNER-Platten erfuhren dagegen mit Hilfe des Serumagglutinationstestes und der Prüfung auf Spermaagglutination nach ROLLE und KALICH (76a) exakte Differenzierung je nach Zugehörigkeit zu einem der Stämme 0 26, 0 55 oder 0 111 und Vorhandensein toxischer Eigenschaften.

2. Zweite Versuchsreihe

Die Untersuchung der zweiten Säuglingsreihe fand im Säuglingsheim BRUNNTHAL statt und erstreckte sich über 22 Tage. Insgesamt wurden dafür 35 gesunde Kinder aller Altersklassen von einem bis zu elf Monaten herangezogen. 20 Säuglinge gehörten der Versuchs- und 15 der Vergleichsgruppe an. Ernährungs- und altersmässig waren im Unterschied zur ersten Untersuchung in beiden Gruppen gleiche Voraussetzungen gegeben.

Die jüngeren Säuglinge wurden bis zu vier Monaten etwa vorwiegend mit Pelargon, Caseinolakt oder gewöhnlicher 1/2- bzw. 2/3-Milch ernährt. Die Älteren erhielten zusätzlich wiederum Obst- und Gemüsebeilagen und in einigen Fällen sogar nur Vollmilch (Alpenbotenmilch). Nach einer dreitägigen Vorperiode begann die Hauptperiode. Der Versuch verlief in zwei alternierenden Reihen, so dass täglich eine andere Gruppe der Kinder zur Unter-

suchung kam. In der Vorperiode wurde die Nahrung durch einen Zusatz von 5% Rohrzucker gesüsst. Für die Zeit der Hauptperiode trat bei Versuchs- und Kontrollkindern eine äquivalente Menge Alete-Nährzucker an die Stelle der Saccharose. Mit dem Zucker nahmen die Versuchskinder wie im ersten Untersuchungsgang pro 100 ccm Milch 0,1 g Phosphatide, 0,015g L-Cystin und 0,05 g Vit. C auf. Dank seines angenehmeren Geschmacks war Alete-Nährzucker der Laktose vorzuziehen, so dass sich die Wuchsstoffpräparate der ersten und zweiten Versuchsreihe also durch ihre Zuckergrundlage unterschieden.

Gemäss der neueren Tendenz, den Säugling möglichst eiweissreich zu ernähren, wurden jedem Kind in der Milch wöchentlich zwei Eier und 120 g Fleisch, zur Hälfte aus Leber, zur Hälfte aus Kalbfleisch bestehend, verabreicht. Später liess man diese Zusätze jedoch versuchsshalber weg.

Der bakteriologische Untersuchungsgang war für die zweite Gruppe mit wenigen Ausnahmen der gleiche wie bei der ersten Gruppe. Lediglich die hohen Verdünnungsstufen von 10^{-6} bis 10^{-9} schieden im Laufe des Versuches für die Kultur der Laktobazillen aus, um durch niedrigere wie 10^{-4} und direkte Stuhlüberimpfung ersetzt zu werden. Wo üppiges Bifidumwachstum zu erwarten war, wurden auch aus höheren Verdünnungen Kulturen angelegt, sonst jedoch nur aus den Konzentrationen 10^0 , 10^{-2} und 10^{-4} .

Diagnose und Differentialdiagnose von Bact.bif.

In Nativpräparaten wie Kulturen war L.bif. schon auf Grund seiner Morphologie zu erkennen. Schlanke, lange, unregelmässig konturierte, granulierte Stäbchen mit Auftreibungen oder Astbildungen am einen Ende, liessen sich unschwer als Bact.bif.

identifizieren. Im gefärbten Stuhlausstrich war dieses durch sein grampositives Verhalten charakterisiert. In manchen Fällen jedoch bereitete seine geschilderte Pleomorphie (vgl. S.3/4) der Differentialdiagnose Schwierigkeiten. Es galt vor allem, ihm gegenüber grampositive Keime, wie L.acidophilus, Sporenbildner und, entsprechend dem Stäbchen-Kokkendimorphismus von Bact.bif. auch Streptococcus lactis auszuschliessen, die neben Bact.bif. in der BLAUROCK-Bouillon gut gediehen. Bei Verdacht auf L.acid. und Streptokokken wurden Subkulturen in peptonisierter Milch und TRYPSIN-DIGEST-Agar (von der amerikanischen Firma DIFCO) zur Klärung herangezogen, da diese Nährböden elek-

tiv das Wachstum von *L.acid.* und Streptokokken fördern. *Bact. bif.* zeigte sich darin nicht entwicklungsfähig. Weitere wertvolle Aufschlüsse über die Morphologie vorhandener Laktobazillen und deren Unterscheidung von Streptokokken und Sporenbildnern ermöglichten Kulturen in MICRO-BROTH-INOCULUM, einem für alle Laktobazillen optimalen Nährmedium (ebenfalls von der Fa. DIFCO 23).

Sporenbildner verrieten ihre Anwesenheit in der Kultur - entsprechend ihrem vorwiegenden Fäulnisstoffwechsel - meist schon durch wenig saure bis neutrale pH-Werte zwischen pH 5,0 und 7,0, während diese bei *Bact.bif.* infolge der Gärungsprozesse deutlich im sauren Bereich um pH 4,0 lagen. Soweit die Diagnose von *Bact.coli* nicht aus der Morphologie im Nativpräparat zu stellen war, ging ihre Anwesenheit aus dem gramnegativen Verhalten und der gleichfalls schwach sauren bis neutralen Reaktion der bewachsenen Nährböden hervor.

II. Ergebnisse

1. Erste Untersuchungsgruppe

Als wesentliche Kriterien für die Güte neuer Säuglingsmilchen oder ihrer Zusätze sind stets Bekömmlichkeit der Nahrung und gewichtsmässige Entwicklung der Kinder zu werten (36). Während der gesamten Versuchsperiode traten bei keinem der Säuglinge Komplikationen auf, die mit Sicherheit zur Verabreichung des Wuchsstoffes in Beziehung gestanden hätten. Allerdings erhielt die Nahrung durch den Zusatz von TN 36-Bi einen faden Geschmack, so dass manche der älteren Säuglinge infolge ihres schon besser differenzierten Geschmackssinnes die Nahrung nur ungern zu sich nahmen oder ganz verweigerten (Nr.16).

Die Gewichtskurven der meisten Versuchskinder zeigten während der Untersuchungen einen unveränderten, gleichmässigen Verlauf; die Werte der täglichen Gewichtsanstiege bewegten sich im einzelnen zwischen 11 g und 37 g und lagen mit 15,6 g durchschnittlich dreimal so hoch wie bei den Kontrollkindern. Nur 3 Säuglinge der Versuchsreihe verloren infolge besonders schwerer Erkrankung laufend an Gewicht (Nr.2, 16, 26). In der Kontrollgruppe ging die Entwicklung der Kinder in 5 Fällen (Nr. 17, 22, 23, 25, 32) ebenfalls mit einem Gewichtsverlust und bei den übrigen Kontrollen mit grossen Schwankungen des Gewichtes einher.

1 bis 2 Tage nach Verabreichung des Wuchsstoffes traten bei 4 Säuglingen (Nr.2, 4, 13, 15) gegenüber der Vorperiode und den altersgleichen Kontrollen vermehrt (3 x tgl.) Stühle auf. Aber das Gedeihen der Kinder war dadurch nicht beeinträchtigt. 3 weitere frühgeborene Säuglinge der Versuchsgruppe (Nr.8, 9, 10) erkrankten kurz nach Beginn des Versuches an starkem Durchfall und Erbrechen. Bei Überprüfung der Stuhlflora konnten als Ursache hierfür toxische Colistämme nachgewiesen werden. Es ist wenig wahrscheinlich, dass diese durch den Bifidumwuchsstoff begünstigt wurden, da bei keinem der übrigen Kinder selbst nach mehrwöchiger Gabe von TN 36-Bi solche Keime zu finden waren. - Auch die Frühgeborenen der Kontrollreihe schieden vermehrt Stühle aus, sobald sich - spätestens nach 12 Tagen - spontan eine Laktobazillenflora gebildet hatte. Die älteren Kontrollen mit gemischter Kost und Colivegetation hatten dagegen nur 1 mal Stuhlgang am Tag (Nr.11, 17, 25, 27).

Bei der bakteriologischen Stuhluntersuchung konnten häufig schon die äussere Beschaffenheit, der pH-Wert und Geruch des Stuhles gewisse Aufschlüsse über die Bakterienflora geben; denn jede Bakterienart bedingt gattungs- und artspezifische Umsetzungen des Darminhaltes und verleiht dem Stuhl dadurch charakteristische Eigenschaften und eine bestimmte Reaktion.

Ein hoher Gehalt an Laktobazillen, d.h. Bact.bif. und acidophilum, verriet sich meist durch die teigig weiche Konsistenz, das hellgelbe, zerhackte Aussehen und den säuerlichen, aromatischen Geruch der Stühle, die dadurch sehr an Frauenmilchstühle erinnerten. Dem Gärungsstoffwechsel der Laktobazillen entsprachen auch die im sauren Bereich gelegenen pH-Werte zwischen pH 4 und 6.

Bei seifig-weissen, wässrigen und braungefärbten, trockenen Stühlen mit fauligem Geruch dagegen fand sich in der Regel eine Mischflora aus Streptokokken, Bact.coli, Proteus und Sporenbildnern. Hier wurden infolge der Fäulnisprozesse vorwiegend alkalische Werte um pH 7,5 erreicht. Die mikroskopische Untersuchung und Kulturverfahren bestätigten fast immer diese Hinweise. Von 89 untersuchten Stühlen der Vorperiode und Kontrollreihe waren 51 mit Reaktionen zwischen pH 4 und 6,5 sauer und 38 mit höheren pH-Werten alkalisch, während unter 163 Proben der Versuchsgruppe 129 sauer reagierten und nur 34 Proben ein alkalisches pH auf-

wiesen. Die genauen Einzelwerte für alle Kinder finden sich in Tab.III.

Die vorstehenden Resultate sprechen für ein vermehrtes Auftreten von Laktobazillen in der Versuchsgruppe. Sie dienen jedoch nur zur groben Orientierung. Denn die Beobachtung überwiegend saurer Stühle bei Laktobazillenflora schliesst nicht aus, dass auch aus alkalischen Stühlen Bifidumkeime zu züchten sind. Vor allem gelang das bei den Stühlen der älteren Kinder (Nr.2, 11, 15, 25) und wurde früher schon von PETUELY (70) beschrieben. Allerdings beschränkte sich das Bifidumwachstum hierbei meist auf niedrigere Verdünnungsstufen, da die Keime nur in kleiner Zahl vorhanden waren. In höheren Verdünnungen liessen sich auch hier nur E.coli, Streptokokken und Sporenbildner nachweisen.

Alle Ergebnisse, die durch die mikroskopische Betrachtung von Stuhlaufschwemmungen und Bakterienkulturen gewonnen wurden, sind in den Übersichtstabellen und teilweise auch in Einzeldarstellungen wiedergegeben (Nr.13 1.Gruppe, Nr.2 2.Gruppe). Von 10 Kindern, deren Stühle schon während der Vorperiode untersucht wurden (Nr.1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 15), trat bei zweien (Nr.8, 15) 2 Tage nach Verabfolgung des Wuchsstoffes erstmalig Bact.bif. im Stuhl auf und wurde während des ganzen Versuches beinahe regelmässig ausgeschieden. Die übrigen Säuglinge waren bereits vor Beginn des Versuches Bifidumträger (Nr.1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10). 4 von ihnen (Nr.2, 3, 4, 7) reagierten auf die Verabreichung des Wuchsstoffes mit einem verstärkten Bifidumwachstum in der Kultur, während die anderen 4 Säuglinge keine solche Floraumstellung erkennen liessen (Nr.1, 5, 9, 10). Auch bei den übrigen 6, nur in der Versuchsperiode untersuchten Kindern, schien die Gabe von Bifidumwuchsstoff einen Einfluss auf die Bakterienflora zu haben. Bei 4 Kindern davon (Nr.12, 13, 18, 26) fanden sich vorwiegend Laktobazillen, besonders Bact. bif., im Stuhl; nur in 2 Fällen (Nr.5, 19) überwogen E.coli und Streptokokken.

Die Resultate der Vorversuchs- und Kontrollreihe wiesen im Vergleich zu den Versuchsergebnissen deutliche Unterschiede auf. Tab.III ermöglicht eine klare Beurteilung des Bifidumwachstums dieser Gruppen. Sie gibt für jede Gruppe des 1.Versuches an, wieviele Stühle untersucht wurden und wieviele Bact.bif. enthielten, sowie die Zahl der sauer bzw. alkalisch reagierenden

Proben. Um die Resultate anschaulicher darzustellen, wurde das Auftreten von Bact.bif. in der Kultur je nach der Höhe des erzielten Wachstumstiters mit Punkten bewertet. Seine Anwesenheit in Stuhlverdünnungen von 10^{-2} , 10^{-6} , 10^{-7} u.s.f. ergab je 20,60 bzw. 70 Punkte. Alleiniger Nachweis des Keimes im unverdünnten Stuhl wurde nur mit 1 Punkt für die betreffende Probe berechnet.

Auf 163 aus der Versuchsgruppe stammende Proben, die 111 mal Bifidumwachstum in der Kultur zeigten, entfielen dabei 4220 Punkte und auf den einzelnen Stuhl im Durchschnitt 25,89 Punkte. Die 89 Stühle aus Vorperiode und Kontrollgruppe waren nur 45 mal bifidumhaltig; sie erzielten dafür 116 Punkte und für den einzelnen Stuhl 13,03 Punkte. Damit lagen die Werte des durchschnittlichen Bifidumwachstums bei den Vergleichsproben rund halb so hoch wie bei den Versuchsproben. - Auch ein Vergleich des Bifidumwachstums bei einzelnen gleichaltrigen Kindern aus beiden Gruppen lässt die höheren Bifidumpunkte der Versuchskinder erkennen (vgl. Tab.VI).

Nr.	Alter	BP	BP	Alter	Nr.
1	7 Wch.	32	5	6 Wch.	30
9	5 Wch.	39,3	10	5 Wch.	24
10	10 Tg.	32	8	1 Tag	32
13	2 Tg.	23,6	13,3	1 Tag	23
18	11 Tg.	27,1	5	8 Tage	31
26	8 Tg.	26	8,8	1 Tag	22
Versuchsgruppe			Kontrollgruppe		

BP = Bifidumpunkte Tab.VI

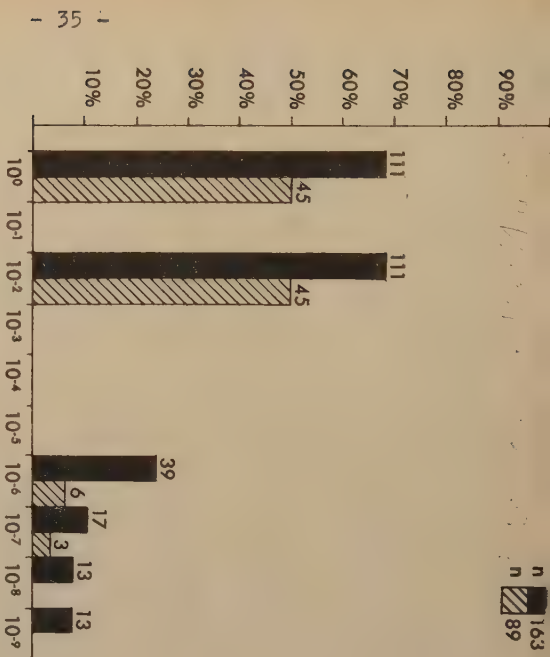
Der prozentuale Anteil der Flora an grampositiven Stäbchen hielt sich dagegen bei beiden Gruppen auf gleicher Höhe, nämlich bei ca. 45% des Gesamtkeimgehaltes.

Die Darstellung A demonstriert in anschaulicher Weise in Form von Säulen, wieviele der Bakterienkulturen, die aus den einzelnen Verdünnungsstufen angelegt wurden, Bact.bif. enthielten. Die schwarzen Felder geben dabei die Resultate der Versuchsgruppe, die schraffierten die der Kontrollgruppe und des Vor-

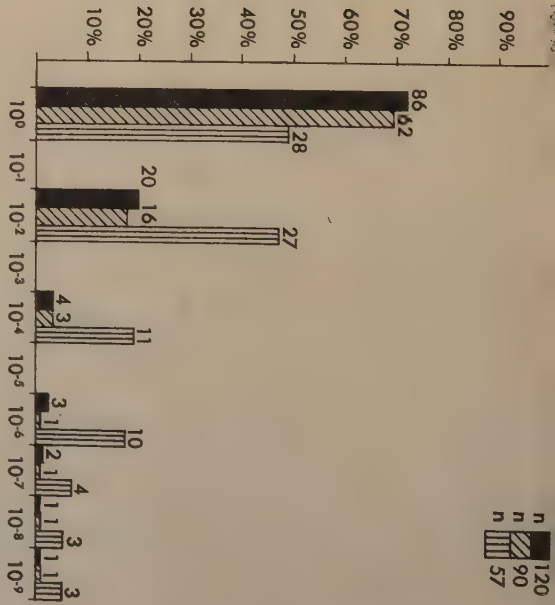
versuches zusammengekommen wieder (vgl. S.35). Mit steigender Verdünnung der Stühle sank deren Gehalt an Bact.bif. und damit nahm auch die Zahl der aus den Verdünnungen angelegten bifidumhaltigen Kulturen bei beiden Gruppen ab. Doch wiesen die aus den Wuchsstoffstühlen angelegten Kulturen in jeder Verdünnungsstufe öfter Bifidumwachstum auf als die Kulturen der Vergleichsstühle. In den Konzentrationen 10^{-8} und 10^{-9} waren nur mehr Erstere Bifidum-haltig, da sich das Bifidumwachstum der Vergleichskulturen schon bei 10^{-7} erschöpfte. Wiederum spricht die Gegenüberstellung für ein Überwiegen von L.bif. in den Wuchsstoffstühlen, wenngleich die Zahlen für eine statistische Beurteilung zu klein sind.

Durch die steigende Verdünnung des Stuhles von 10^{-2} bis 10^{-9} wurden jeweils die meist vertretenen und entwicklungsfähigsten Keime des Stuhles herausgelesen und in ihrem kulturellen Wachstum gefördert. Eine im Stuhl überwiegende Keimart musste demnach auch in den höchsten Verdünnungsstufen am stärksten in Erscheinung treten und liess sich andererseits aus deren Keimgehalt mit einiger Sicherheit ermitteln. Über ihre Beschaffenheit konnte auch hier schon die Reaktion des Nahrsubstrates bzw. deren Änderung gegenüber der Ausgangslage gewisse Aufschlüsse geben. Waren beispielsweise im Stuhl überwiegend Laktobazillen vorhanden, so lag der pH-Wert der Endverdünnungskultur in der Regel zwischen 3,9 und 4,2, bei Streptokokken um pH 4,5 und am höchsten bei Anwesenheit von Bact. coli, nämlich zwischen 4,5 und 6,0. Eine durch Punkte unterbrochene Linie gibt in der Einzeltabelle Nr.13 der 1.Gruppe diese Werte an, um auf andere Weise die Zusammensetzung der Darmflora zu erschliessen. Mit dem Bakterienspektrum übereinstimmend verläuft sie bei Laktobazillennachweis zwischen pH 3,9 und 4,5, steigt jedoch auf 4,5 und höher an, sobald Streptokokken und Colikeime in den Vordergrund der Kultur treten.

In einem Drittel aller während der 1.Versuchsreihe durchgeführten Untersuchungen (83 mal in 252 Proben) fand sich *Proteus vulgaris* im Stuhl. Versuchs- und Kontrollstühle unterschieden sich hinsichtlich seines Vorkommens nicht voneinander. Trat Bact.bif. in seiner Begleitung auf, dann konnte dieses nur selten aus hohen Verdünnungen gezüchtet werden. Häufig waren dagegen Bifidumkeime in Stuhl und Kultur in Gesellschaft



Darstellung A demonstriert in Form von Säulen, wie oft in allen Kulturen, die aus unverdünntem Stuhl $f=10^0$ sowie den Stuhlverdünnungen 10^{-2} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} und 10^{-9} angelegt wurden, Bact.bif. vorkam. Die schwarzen Säulen geben die Resultate der 1. Versuchsreihe, die schraffierten die der zugehörigen Kontrollreihe und Vorperiode wieder. - Die Abbildung lässt erkennen, dass das Bifidumwachstum der Wuchsstoffstühle in allen Verdünnungsstufen stärker war als in den Vergleichsstühlen und sich um 2 Zehnerpotenzen weiter verfolgen liess. n = die Zahl aller aus der Versuchs- bzw. Vergleichsgruppe angelegten Kulturen. n-Versuch = 163, n-Vergleich = 89.



Darstellung B demonstriert für die 2. Versuchsreihe gleichfalls in Form von Säulen, wie oft in allen Kulturen, die aus unverdünntem Stuhl $f=10^0$ bzw. den Stuhlverdünnungen 10^{-2} , 10^{-6} , 10^{-7} bis 10^{-9} angelegt wurden, Bact.bif. vorkam. Die schwarzen Säulen geben wieder die Resultate der Versuchs-, die schraffierten die der Kontrollreihe und die grau getönten die der Vorperiode an. Die Werte der ersten beiden nehmen mit zunehmender Verdünnung rasch ab und lassen minimale Unterschiede erkennen, während die Vorperiodenstühle bis 10^{-5} weit stärkeres Bifidumwachstum aufweisen. n-Versuch = 120, n-Kontrolle = 90, n-Vorperiode = 57.

von *Streptococcus lactis* zu beobachten, dem als gleichfalls starkem Säurebildner im Darm auch gewisse Schutzfunktionen zukommen.

Wider Erwarten übertraf das mit Ammenmilch ernährte Kind die übrigen künstlich ernährten Versuchs- und Kontrollkinder gleichen Alters nicht durch ein besonders üppiges *Bifidum*-wachstum. Dieser Keim liess sich aus seinen Stühlen zwar regelmässig, aber niemals mit höherem Titer als 10^{-2} züchten.

An den 4 Versuchskindern, die für eine Nachperiode zur Verfügung standen, wurde mit Absetzen des Wuchsstoffes ein rascher Rückgang der grampositiven Stäbchen im Darm beobachtet (Nr. 2, 9, 10, 13). Zwar reagierten alle 16 Stuhlproben der Nachperiode sauer, doch war *Bact. bif.* nur 8 mal und selten mit höherem Titer als 10^{-2} in der Kultur anwesend.

Besondere Beachtung verdient heute auch das Problem der Zerstörung der Bakterienflora durch bestimmte Antibiotika und Sulfonamide. Um zu diesem Problem einen Beitrag zu liefern, wurden im Rahmen der Untersuchungen bei Kindern mit Antibiotika- bzw. Sulfonamidmedikation Darmfloraumstellungen genau verfolgt. - Chloramphenicol wurde über 8 Tage in einer Menge von 120-250 mg täglich an 3 Kinder (Nr. 2, 4, 17) verabfolgt; die Darmflora blieb während dieser Zeit unbeeinflusst.

Auch Hostamycin veränderte während einer 5 Tage langen Dosierungsdauer bei 4 Kindern (Nr. 9, 15, 19, 24) die Bakterienflora nicht, wohl aber traten bei 1 Säugling in Form von *Candida albicans* Hefezellen auf.

Ebenso schien die Entwicklung dieser Hefen in Anwesenheit von Hostacyclin begünstigt, das in 3 Fällen zur Anwendung kam. Bei kurzfristiger Einwirkung von 3 Tagen bewirkte dieses Antibiotikum keine Umstellung der Stuhlflora, während 7-tägiger Verabreichung von täglich 15 mg aber verschwanden die vorher überwiegenden, grampositiven Stäbchen rasch und weitgehend aus dem Darm; *Bact. bif.* war nicht mehr nachweisbar. Die früher sauren Stühle reagierten nun alkalisch und wurden nur mehr 1 mal täglich abgesetzt (Nr. 1). Kleine Mengen (50 mg) von Aureomycin führten keine Änderung der Darmvegetation herbei, während Dosen von 100 mg und mehr nach 8 Tagen anscheinend eine Verschiebung der Keimrelationen zugunsten von Streptokokken und *E. coli* bewirkten. Das kulturelle Wachstum von *Bact. bif.* war jedoch

Tabelle I a zum 1. Versuch (A: Versuchsgruppe)

Nr.	Ge- schl.	Alter	Gewicht bei Versuchs- Beginn	Gewicht bei Versuchs- Ende	Tägliche Gewichts- zunahme	Nahrung	Laktose- Eiweiss- quotient	Stuhl- zahl tägl.	Krankheit
1	♀	7 Wochen	4180 g	4880 g	+ 37,06 g	Eledon+Reisschl. 2/3-Nestle+3%Wu.	2,25/1 2,6/1	1-2	Cystitis
2	♀	7 1/2 Mo.	4740 g	4900 g	- 5,45 g	2/3-Citrettenm.+ Gemüse+Moro+3%Wu.	1,07/1	2	Pneumonie
3	♂	7 Monate	5900 g	7200 g	+ 35,11 g	2/3-Citretten+Moro Obst+Griesb.+3% Wu.	1,4/1 0,05/1	2	Stridor
4	♀	5 1/2 Mo.	5540 g	6150 g	+ 26,0 g	2/3-Nestle+Koro+ Gemüse+3%Wu.	1,84/1	2	cerebral. Defekt
5	♂	6 Monate	7400 g	7520 g	+ 11,0 g	1/2-Milch+Gemüse 2/3-Citretten+3%Wu.	2,38/1 1,4/1	1-2	Fieber
7	♀	2 1/2 Mo.	4130 g	4730 g	+ 22,22 g	2/3-Nestle+Gemüse +3%Wu.	2,38/1	2-3	Husten
8	♂	5 Tage	3330 g	3830 g	+ 22,0 g	2/3-Nestle+Reis+ 3%Wu.	2,6/1	2-3	Frühgeb.
9	♀	5 Wochen	2740 g	3480 g	+ 21,15 g	2/3-Nestle+Mondamin +3%Wu.	2,6/1	2-3	Frühgeb.
10	♂	10 Tage	2330 g	3040 g	+ 19,3 g	2/3-Nestle+Reis +3%Wu.	2,6/1	2	Frühgeb.
12	♀	6 Monate	5150 g	5410	+ 26,0 g	2/3-Citretten+ Gemüse+3%Wu.	2,38/1	1	Bronchitis
13	♀	2 Tage	2100 g	3030 g	+ 25,17 g	2/3-Nestle+Reis +3%Wu.	2,6/1	2	Frühgeburt
15	♂	3 Monate	4040 g	4470 g	+ 13,75 g	Eledon+Reisschl. Vollalete+3%Wu.	2,25/1 2,6/1	2	Dermatitis
16	♂	7 1/2 Mo.	9000 g	8620 g	- 18,1 g	Moro+Gemüse+3%Wu.	2,25/1	1	spastische Bronchitis
18	♂	11 Tage	3100 g	3370 g	+ 15,88 g	Eledonm.+Reis+3%Wu.	2,25/1 2,6/1	2	Brechdurch- fall
19	♂	3 Monate	4890 g	5100 g	+ 18,18 g	2/3-Nestle+Reis 2/3-Citrettenm.+ 3%Wu.	2,6/1	2	Pneumonie
26	♀	8 Tage	3050 g	3000 g	- 20 g	2/3-Nestle+Reis +3%Wu.	2,6/1	2	Encephalo- cele

Σ + 15,62 g

Tabelle I b zum 1. Versuch (B: Kontrollgruppe)

Nr.	Ge- schl.	Alter	Gewicht bei Versuchs- Beginn	Gewicht bei Versuchs- Ende	Tägliche Gewichts- zunahme	Nahrung	Laktose- Eiweiß- quotient	Stuhl- zahl tägl.	Krankheit
11	♀	1 8/12 J.	9600 g	10000 g	+ 12,5 g	Wackerlkost	0,67/1	1	Pneumonie
17	♀	1 2/12 J.	9400 g	9300 g	- 7,14 g	Wackerlkost	0,67/1	1	Angina
20	♂	1 8/12 J.	8200 g	9000 g	+ 33,33 g	Wackerlkost	0,67/1	1-3	Infekt
22	♀	1 Tag	1450 g	1170 g	- 10 g	Einbrennschmelze	0	2-3	Frühgeb.
23	♀	1 Tag	1100 g	1010 g	- 3,2 g	Ammenmilch	5,8/1	2-3	Frühgeburt
24	♀	34 Tage	2550 g	2770 g	+ 9,17 g	Eledonmilch	1,29/1	2	Anämie
25	♀	2 Jahre	10800 g	10400 g	- 30,76 g	Wackerlkost	0,67/1	0-1	cerebraler Defekt
27	♀	9 Monate	7250 g	7580 g	+ 17,37 g	Vollkorn + Morobrei + Gemüse	2,37/1	0-1	Obstipation
30	♂	6 Wochen	3540 g	3940 g	+ 30,76 g	Eledonmilch	1,29/1	1-2	Brech- durchfall
31	♂	8 Tage	2360 g	2440 g	+ 8,33 g	2/3-Nestlemlch	1,3/1	2-3	Meningitis
32	♂	1 Tag	1630 g	1460 g	- 15,45 g	2/3-Nestlemlch	1,3/1	2	Frühgeburt

Σ + 4,83 g

Tabelle III zum 1. Versuch: Bakteriologische Ergebnisse

Mr.	Alter	Laktose- Eiweiß- quotient	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5 7-9	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Gesamt- Stühle	Punkte- zahl d. Einzel- Stühle	pH 4-6,5 7-9
1	7 Wchn.	2,6:1	2	2	80	2	10	8	320	32	4
2	7 1/2 M.	1,07:1	2	1	20	2	12	7	300	25	6
3	7 Mon.	1,4:1	2	1	20	2	13	12	490	37,7	2
4	5 1/2 M.	1,84:1	2	2	40	2	12	7	180	15	-
5	6 Mon.	2,38:1	2	2	90	2	6	-	-	-	2
7	2 1/2 Mo.	2,38:1	2	1	20	1	12	7	180	15	1
8	5 Tg.	2,6:1	2	-	-	-	14	10	240	17,1	3
9	5 Wchn.	2,6:1	2	2	90	-	14	12	550	39,3	-
10	10 Tg.	2,6:1	2	2	90	-	15	11	480	32	3
12	6 Mon.	2,38:1	-	-	-	-	8	7	140	17,5	-
13	2 Tg.	2,6:1	-	-	-	-	14	6	330	23,6	1
15	3 Mon.	2,25:1	1	-	-	1	12	10	380	31,7	8
16	7 1/2 Mo.	2,25:1	-	-	-	-	6	3	210	35	1
18	11 Tg.	2,25:1	-	-	-	-	7	4	190	27,1	1
19	3 Mon.	2,6:1	-	-	-	-	3	3	100	33,3	2
26	8 Tg.	2,6:1	-	-	-	-	5	4	130	26	-
			19	13	450	11	163	111	4220	25,89	34

1. Vorperiode

1. Versuchsperiode

Tabelle III zum 1. Versuch: Bakteriologische Ergebnisse

Kontrollgruppe I

Nr.	Alter	Laktose- Eiweiß- quotient	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5	pH 7-9	Punkte- zahl d. Einz.Stuhls
11	1 ⁸ / ₁₂ J.	0,67:1	9	6	120	-	9	13,33
17	1 ² / ₁₂ J.	0,67:1	6	2	80	5	1	13,33
20	1 ⁸ / ₁₂ J.	0,67:1	8	3	50	1	7	6,25
22	1 Tag	0	9	4	80	6	3	8,88
23	1 Tag	5,8:1	9	6	120	8	1	13,33
24	34 Tg.	1,29:1	6	3	60	6	-	10
25	2 Jahre	0,67:1	5	3	60	-	5	12
27	9 Mon.	2,37:1	6	2	80	5	1	13,33
30	6 Wehn.	1,29:1	3	-	-	2	1	-
31	8 Tage	1,3:1	4	1	20	4	-	5
32	1 Tag	1,3:1	5	2	40	3	2	8
			89	45	1160	51	38	13,03

Tabelle V: Zusammenfassung der Ergebnisse aus Tab.III und IV

	Unter- suchte Stühle	Davon Bifidum- haltig	Gesamt- punkte- zahl für alle Stühle	Punkt- zahl d. einzeln. Stuhles	Stuhlreaktionen pH 4-6,5	Stuhlreaktionen pH 7,0-9,0	Wieviele Kinder hatten günstigen L:EW-Quotient ja nein
1.Vers.Gruppe	163	111	4220	25,89	129	34	9 7
1.Vorp.+Kontr.	89	45	1160	13,03	51	38	1 10
2.Vers.Gruppe	120	86	780	6,5	44	76	- 20
2.Kontr.Gruppe	90	62	476	5,29	24	66	- 15

nicht zurückgedrängt und die Stühle behielten saure pH-Werte. Bei Penicillintherapie fanden sich wiederum Hefen im Stuhl, auch trat gegenüber Streptokokken und gramnegativen Stäbchen der Gehalt an grampositiven Stäbchen in der Stuhlaufschwemmung zurück.

Insgesamt ergaben nicht weniger als 83 von 252 während des 1. Versuches überprüften Stühlen ein Wachstum von *Candida albicans* in der Kartoffelkultur. Beziehungen zwischen dieser und dem Auftreten von *Bact.bif.* waren nicht festzustellen.

Von den Sulfonamiden kam vor allem Dosulfin zur Anwendung, das durchschnittlich 7-10 Tage lang gegeben wurde, aber keinen Einfluss auf die Darmflora zeigte. Unter einer 5-tägigen Meningitisbehandlung (Nr.31) mit Aristamid und Hostamycin stellte sich jedoch bald eine Keimverarmung des Darmes ein, während Hostamycin allein diese Wirkung nicht gezeigt hatte. Die Relation der Keime war allerdings nicht gestört.

2. Zweite Untersuchungsgruppe

Da nach den Untersuchungsergebnissen der 1. Gruppe eine spezifische Wirkung des Bifidumwuchsstoffes TN 36-Bi angenommen werden konnte, wurde versucht, diesen Befund in einer 2. Versuchsgruppe an gesunden Säuglingen zu erhärten. Hier konnte erwartet werden, dass weder Krankheitsprozesse noch therapeutische Eingriffe die Beurteilung der Versuchsergebnisse erschweren würden. Im Gegensatz zur 1. Untersuchungsgruppe erhielten in diesem Versuchsgang alle gleichaltrigen Säuglinge der Versuchs- und Kontrollreihe gleiche Kost; diese bestand aus 2/3- bzw. Vollmilch mit Obst- und Gemüsezulagen. An die Stelle des in der Vorperiode verwendeten Rohrzuckers trat in der Hauptperiode bei allen Kindern Alete-Nährzucker, ein Dextrin-Maltose-Gemisch, das in vitro stärker bifidogen wirkt als Saccharose. Zusätzlich nahmen die Versuchskinder die spezifischen Wuchsstoffkomponenten auf, und zwar in gleicher Konzentration wie im 1. Versuch. Sie vertrugen die Nahrung allgemein gut. Vor allem wies diese einen angenehmeren Geschmack auf als im 1. Versuch, da sie anstatt der damals verwendeten Laktose nunmehr Alete-Nährzucker enthielt.

Bemerkenswert erschien, dass trotz der eiweiss- und kalorienreichen Ernährung viele Säuglinge der 2. Versuchsreihe ein zu geringes Gewicht hatten. Wenngleich sich in 4 Fällen (Nr.14, 6, 27, 25) eine gesteigerte Gewichtszunahme im Vergleich zu

früher beobachten liess, hatten doch bei Abschluss der Untersuchung von 35 gesunden Säuglingen 8 der Versuchsgruppe angehörende und 9 Kontrollen die ihrem Alter entsprechenden Werte nicht erreicht. Mit 18 g durchschnittlicher täglicher Gewichtszunahme erzielten die Kontrollkinder sogar bessere Resultate als die Versuchskinder, die im Durchschnitt nur 15,5 g am Tag zunahmen (vgl. die Gewichtsangaben auf Tab.II).

Während die Säuglinge in der Klinik durchschnittlich zwei Stühle am Tag hatten, setzten die Säuglinge des Heimes täglich nur einen Stuhl ab. Mitunter verzögerten Obstipationen die Defäkation sogar einige Tage. Meist handelte es sich um feste, dunkelbraun gefärbte, faulig riechende Schlacken, deren Beschaffenheit bereits die anwensenden Fäulniskeime verriet. Die Messung der Reaktion mit MERCK-pH-Papier scheiterte zuweilen an der festen Konsistenz des Kotes, häufig lagen die pH-Werte in alkalischen Bereichen zwischen pH 7 und 9. Neben obstipierten wurden auch dyspeptische Stühle beobachtet, die durch breiig-wässrige, weisslich-graue Beschaffenheit, üblen Geruch und gleichfalls alkalische Reaktionen auffielen. - Von einer Untersuchung zur anderen unterlagen die pH-Werte oft grossen Schwankungen bis zu 4 Graden, z.B. zwischen pH 9 und 5 (Nr.24). Spontan fanden sich hin und wieder auch saure Stühle in beiden Gruppen, die durch ihr Aussehen wie im 1.Versuch häufig an Brustmilchstühle erinnerten. Von insgesamt 57 der Vorperiode entstammenden Proben zeichneten sich 15 durch saure pH-Werte zwischen pH 4 und 6,5, und 42, also mehr als doppelt so viele, durch alkalische Reaktionen aus. Die Verabreichung von Wuchsstoff und Alete-Nährzucker vermochte diese Verhältnisse während des Versuches nicht wesentlich zu bessern: 44 Wuchsstoffstühle gehörten der sauren, und 75 der alaklischen Gruppe an. In der Kontrollreihe waren von 90 Stühlen 24 sauer und 66 alkalisch.

An der Bildung der Darmflora waren die grampositiven Stäbchen in allen Stühlen mit ca. 12% des gesamten Keimgehaltes beteiligt.

Bact.coli und Streptokokken stellten den überwiegenden Teil der Flora dar und bestimmten damit entscheidend die Beschaffenheit der Stühle. Auch in der Kultur entwickelten sie ein üppiges Wachstum. Bact.bif. vermochte nicht, sich ihnen gegenüber durchzusetzen, und zeigte nur spärliches Wachstum. Von 120

der Versuchsgruppe entnommenen Stühlen enthielten zwar 86 Bact. bif., doch liessen sich diese Keime meist nur im unverdünnten Stuhl und selten in Verdünnungen über 10^{-2} nachweisen. Ihr Auftreten wurde - entsprechend dem auf S.33 angegebenen Schema - mit insgesamt 780 Punkten bewertet, wovon auf die einzelne Probe 6,5 Punkte entfielen. Bei 90 Kontrolluntersuchungen wurden 62 mal Bifidumkeime nachgewiesen und dafür 476 Punkte gezählt, d.h. 5,3 Punkte für die einzelne Probe. Damit ergab sich kein nennenswerter Unterschied zur Versuchsreihe. Am höchsten lag die Punktzahl in der Vorperiode, wo in 57 Stühlen 28 mal Bact. bif. enthalten war und 1061 Punkte gegeben wurden, d.h. für die einzelne Probe 18,6, knapp 3 mal so viel wie für die Wuchsstoffstühle. In Tab.IV sind die hier genannten Werte übersichtlich zusammengefasst. Darstellung B (vgl. S.35) veranschaulicht für den 2.Untersuchungsgang wiederum durch Säulen, wie viele von allen aus den einzelnen Stuhlverdünnungen angelegten Kulturen bifidumhaltig waren. Dabei wurde mit den Konzentrationen 10^0 , 10^{-2} , 10^{-4} und 10^{-6} bis 10^{-9} gearbeitet.

Die schwarzen Säulen betreffen wie in Darstellung A die Verhältnisse der Versuchsgruppe, die schraffierten Säulen jene der Kontrollgruppe und die grau getönten Säulen geben über das Verhalten der Vorperiode Aufschluss.

Aus der Darstellung geht hervor, dass zwar die direkte Überimpfung von Stuhl auf das Nährsubstrat in 86 von 120 Kulturen ein Bifidumwachstum ergab; jedoch fiel dieses schon bei 10^{-2} durch die reichliche Anwesenheit von Streptokokken und E.coli stark ab und war bei 10^{-9} nur mehr in einer von 120 angelegten Kulturen anzutreffen. Die bei den Kontrollkindern ermittelten Werte liessen Ersteren gegenüber minimale Unterschiede erkennen, die statistisch nicht verwertbar sind.

Es war auffallend, dass die Bifidumkeimzahlen der aus der Vorperiode stammenden Stuhlkulturen die Werte der Versuchs- und Kontrollstühle bei weitem übertrafen. In 3 Fällen wurde sogar noch ein Bifidumwachstum in der Verdünnung 10^{-9} nachgewiesen.

Der Entzug zusätzlicher Eiweissanreicherung der Milch durch Eier, Leber und Fleischbrühe während des Versuches blieb ohne Einfluss auf die Darmflora. Proteus vulgaris trat in zwei Dritteln aller untersuchten Stühle in Erscheinung, auch wurden mehrfach grampositive Sporenbildner festgestellt. Hefen dagegen fanden sich in wesentlich kleinerer Anzahl als im 1.Versuch.

Tabelle II a zum 2. Versuch (A: Versuchsgruppe)

Nr.	Ge- schl.	Alter	Gewicht bei Versuchs- Beginn	Gewicht bei Ende	Tägliche Gewichts- zunahme	Nahrung	Laktose- Eiweiss- quotient	Stuhl- zahl tägl.
1	♂	9 1/2 Mo.	6920 g	6980 g	+ 3,15 g	2/3-Milch+Gemüse+ Obstbrei+3%Wu.	1,24/1	1
2	♂	6 1/2 Mo.	6850 g	6950 g	+ 5,26 g	Vollmilch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,27/1	1
3	♀	8 Mo.	7460 g	7640 g	+ 9,47 g	Vollmilch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,27/1	1
4	♀	8 1/2 Mo.	7460 g	7610 g	+ 7,8 g	Vollmilch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,27/1	1
5	♂	4 3/4 Mo.	5970 g	6200 g	+ 12,1 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,24/1	1
6	♂	6 1/4 Mo.	6020 g	6500 g	+ 25,26 g	2/3-Milch+Gemüse +3%Wu.	1,32/1	1
8	♀	7 Mo.	6250 g	6500 g	+ 13,15 g	2/3-Milch+Tee +3%Wu.	1,5/1	1
9	♀	9 Mo.	6300 g	6300 g	+ 0 g	Vollmilch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,27/1	1
12	♀	4 1/4 Mo.	4080 g	4250 g	+ 8,94 g	2/3-Milch+Gemüse/ Caseinolakt+3%Wu.	1,32/1	1
13	♀	11 1/4 Mo.	6280 g	6550 g	+ 14,2 g	Vollmilch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,27/1	1
14	♂	7 3/4 Mo.	6230 g	6720 g	+ 25,78 g	Vollmilch+Gemüse +Milchbrei+3%Wu.	1,32/1	1
15	♂	5 3/4 Mo.	6550 g	6760 g	+ 11,05 g	Vollmilch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,27/1	1
18	♂	4 Mo.	5230 g	5700 g	+ 24,73 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,24/1	1
21	♀	2 1/4 Mo.	4800 g	5330 g	+ 27,36 g	2/3-Milch+Gemüse +3%Wu.	1,32/1	1

Fortsetzung s. nächste Seite!

Fortsetzung von Tabelle II a - S.45 -

Nr.	Ge- schl.	Alter	Gewicht bei Versuchs- Beginn Ende		Tägliche Gewichts- zunahme	Nahrung	Laktose- Eiweiß- quotient	Stuhl- zahl tägl.
24	♂	1 1/2 Mo.	4050 g	4360 g	+ 16,31 g	1/2-Milch+ 3%Wu.	1,5/1	1
25	♂	2 1/2 Mo.	4580 g	5050 g	+ 30 g	Caseinolakt+ Reisschl.+3%Wu.	0,5/1	1
27	♀	4 1/2 Mo.	4330 g	4870 g	+ 28,94 g	2/3-Milch+ Gemüse+3%Wu.	1,32/1	1
29	♂	4 1/2 Mo.	4680 g	5010 g	+ 16,84 g	2/3-Milch+ Gemüse+3%Wu.	1,32/1	1
30	♀	4 Mo.	4500 g	4850 g	+ 18,4 g	2/3-Milch+ Gemüse+3%Wu.	1,32/1	1
46	♂	5 1/4 Mo.	6720 g	6950 g	+ 12,1 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei+3%Wu.	1,24/1	1

Σ + 15,54 g

Tabelle II b zum 2. Versuch (B: Kontrollgruppe)

Nr.	Ge- sohl.	Alter	Gewicht bei Versuchs- Beginn	Gewicht bei Versuchs- Ende	Tägliche Gewichts- zunahme	Nahrung	Laktose- Eiweiß- quotient	Stuhl- zahl tägl.
7	♂	2	Mo. 4300 g	4680 g	+ 20 g	Pelargon+Gemüse	0	1
10	♀	4	1/2 Mo. 4890 g	5470 g	+ 25,26 g	Caseinolakt+ Reisschleim	0,5/1	0-1
11	♂	3	1/4 Mo. 3320 g	3760 g	+ 23,68 g	Pelargon+Gemüse	0	1
16	♀	7	1/4 Mo. 5800 g	5900 g	+ 5,26 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei	1,24/1	0-1
20	♀	4	1/4 Mo. 5010 g	5330 g	+ 16,84 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei	1,24/1	1
23	♀	1	Mo. 2570 g	2850 g	+ 28 g	1/2-Milch/Caseino- lakt+Reis	0,5/1	1
26	♂	1	1/4 Mo. 3760 g	4200 g	+ 23,15 g	1/2-Milch	1,25/1	1
28	♀	3	Mo. 3940 g	4250 g	+ 26,31 g	2/3-Milch	1,25/1	1
33	♀	6	1/4 Mo. 6960 g	7250 g	+ 18,42 g	Vollmilch+Gemüse +Obstbrei	1,27/1	1
34	♂	7	Mo. 7180 g	7350 g	+ 8,9 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei	1,24/1	1
35	♂	7	1/4 Mo. 5680 g	6020 g	+ 17,89 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei	1,24/1	1
40	♀	5	1/2 Mo. 5730 g	5940 g	+ 11,05 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei	1,24/1	1
43	♂	9	Mo. 7060 g	7210 g	+ 7,89 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei	1,24/1	1
50	♀	7	1/2 Mo. 7650 g	8000 g	+ 18,4 g	2/3-Milch+Gemüse +Obstbrei	1,24/1	1
56	♂	4	1/2 Mo. 4820 g	5180 g	+ 19,47 g	2/3-Milch+Gemüse	1,32/1	1

Σ + 18,03 g

Tabelle IV zum 2. Versuch: Bakteriologische Ergebnisse

Nr.	Alter	Laktose- Eiweiß- quotient	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5	pH 7-9	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5	pH 7-9
1	9 ¹ / ₂ Mo.	1,24:1	2	-	-	-	2	6	3	3	1	5
2	6 ¹ / ₂ Mo.	1,27:1	2	1	20	1	1	6	5	44	2	4
3	8 Mo.	1,27:1	2	1	60	1	1	6	5	82	2	4
4	8 ¹ / ₂ Mo.	1,27:1	2	2	21	-	2	6	6	25	1	5
5	4 ³ / ₄ Mo.	1,24:1	2	2	60	-	2	6	4	111	4	2
6	6 ¹ / ₄ Mo.	1,32:1	2	2	40	-	2	6	3	3	3	3
8	7 Mo.	1,5:1	2	2	90	1	1	6	4	4	1	5
9	9 Mo.	1,27:1	2	1	20	-	2	5	2	40	1	4
12	4 ¹ / ₄ Mo.	1,32:1	2	2	110	-	2	6	4	42	5	1
13	11 ¹ / ₄ Mo.	1,27:1	2	1	60	-	2	6	4	32	2	4
14	7 ³ / ₄ Mo.	1,32:1	2	-	-	1	1	6	6	25	1	5
15	5 ³ / ₄ Mo.	1,27:1	2	1	20	-	2	6	4	23	2	4
18	4 Mo.	1,24:1	2	2	180	1	1	6	5	64	4	2
21	2 ¹ / ₄ Mo.	1,32:1	2	-	-	1	1	6	5	24	4	2

Fortsetzung s. nächste Seite!

Fortsetzung von Tabelle IV - S.48 -

Nr.	Alter	Laktose- Eiweiß- quotient	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5	pH 7-9	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5	pH 7-9
24	1 1/2 Mo.	1,5:1	1	1	60	-	1	7	6	152	3	4
25	2 1/2 Mo.	0,5:1	2	-	-	-	2	6	4	4	5	1
27	4 1/2 Mo.	1,32:1	2	1	60	-	2	6	4	23	1	5
29	4 1/2 Mo.	1,32:1	2	-	-	-	2	6	3	25	1	5
30	4 Mo.	1,32:1	2	-	-	-	2	6	4	4	1	5
46	5 1/4 Mo.	1,24:1	1	-	-	-	1	6	5	62	-	6
			38	19	801	6	32	120	86	780	44	76

2. Vorperiode

2. Versuchsperiode

Kontrollgruppe II

Nr.	Alter	Laktose- Eiweiß- quotient	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5	pH 7-9	Unter- suchte Stühle	Bifid. halt. Stühle	Punkte- zahl d. Stühle	pH 4-6,5	pH 7-9
7	2 Mo.	0	2	-	-	2	-	6	5	5	1	5
10	4 1/2 Mo.	0,5:1	2	2	40	2	-	5	3	41	-	5
11	3 1/4 Mo.	0	2	-	-	2	-	6	3	3	-	6
16	7 1/4 Mo.	1,24:1	2	2	40	1	1	6	6	44	4	2
20	4 1/4 Mo.	1,24:1	2	1	20	-	2	5	2	2	1	4
23	1 Mo.	0,5:1	2	1	60	1	1	4	2	21	4	-
26	1 1/4 Mo.	1,25:1	2	-	-	1	1	6	5	82	4	2
28	3 Mo.	1,25:1	2	-	-	-	2	5	4	23	-	5
33	6 1/4 Mo.	1,27:1	1	1	20	-	1	6	5	132	1	5
56	4 1/2 Mo.	1,32:1	2	2	80	-	2	5	3	3	2	3
34	7 Mo.	1,24:1	-	-	-	-	-	7	3	3	2	5
35	7 1/4 Mo.	1,24:1	-	-	-	-	-	7	4	23	2	5
40	5 1/2 Mo.	1,24:1	-	-	-	-	-	7	6	6	2	5
43	9 Mo.	1,24:1	-	-	-	-	-	8	6	25	1	7
50	7 1/2 Mo.	1,24:1	-	-	-	-	-	7	5	63	-	7
			57	28	1061	15	42	90	62	476	24	66

III. Diskussion

Die vorstehenden bakteriologischen Untersuchungsergebnisse liessen deutliche Unterschiede zwischen den Stühlen der 1. und 2.Versuchsserie erkennen. Auch innerhalb der einzelnen Untersuchungsgruppen wiesen die Resultate der Stuhlkeimanalysen Verschiedenheiten auf. Die Stuhlproben der mit TN 36-Bi-Zusatz ernährten kranken Säuglinge der Kinderpoliklinik zeigten vorwiegend eine an Brustmilchstühle erinnernde Beschaffenheit und zeichneten sich durch eine gleichbleibend saure Reaktion aus. Ihr Gehalt an Bact.bif. war deutlich höher als der in den Stühlen der Kontrollgruppe. Diese reagierten häufiger alkalisch und zeigten vorwiegend eine Mischflora aus Streptokokken und Bact.coli. Die Stuhlproben der gesunden Säuglinge aus dem Heim enthielten reichlich Fäulniskeime, hatten meist tief alkalische pH-Werte und stark wechselnde Beschaffenheit mit minimalem Bifidumgehalt. Die Versuchs- und Kontrollstühle liessen nur geringe Unterschiede erkennen. Die Stühle der Vorperiode zum 2.Versuch überraschten im Vergleich zu ihnen durch relativ hohen Bifidumgehalt.

Um die Ergebnisse des kulturellen Bifidumwachstums anschaulicher darzulegen, wurde versucht, dieses entsprechend seiner Häufigkeit und der Höhe seines Titors mit Punkten zu bewerten. Dabei entfielen im 1.Versuch auf die Versuchsgruppe durchschnittlich 25,89 Punkte pro Stuhl, auf die Vergleichsstühle nur 13,03 Punkte. Im 2.Versuch wurden für die Versuchskinder 6,5 und für die Kontrollkinder 5,3 Punkte errechnet, also kaum wahrnehmbare Unterschiede zwischen den letzten beiden Werten. Die Proben der 2.Vorperiode erreichten dagegen eine durchschnittliche Punktezahl von 18,6 für den einzelnen Stuhl.

Die besten Resultate zeigten bei dieser Gegenüberstellung somit die Versuchskinder der 1.Untersuchungsgruppe; sie schienen eine bifidumfördernde Wirkung von TN 36-Bi anzudeuten. Den Ergebnissen der 2.Versuchsreihe war ein solcher Effekt jedoch nicht zu entnehmen.

Um diese Diskrepanz zwischen beiden Untersuchungsergebnissen zu klären, müssen die zur Darmflora in Beziehung stehenden Faktoren Berücksichtigung finden. In erster Linie sei hier auf den unterschiedlichen Zuckergehalt der Nahrung hingewiesen. Im 1.Versuch wurden mit dem Wuchsstoff gleichzeitig 3%

Laktose verabfolgt, während die Nahrung der Vergleichskinder Trauben- bzw. Alete-Nährzucker enthielt. Der Milchzuckergehalt der Kontrollnahrungen entsprach somit dem einer verdünnten Kuhmilch und war folglich viel geringer als der der Versuchsnahrungen.

In der 2.Versuchsperiode enthielten alle Nahrungen anstatt des Laktosezusatzes Alete-Nährzucker. Damit fehlte der für Bact.bif. wichtigste und adäquate Energiespender. Trotz Anwesenheit der Wuchsstoffkomponenten förderte Alete-Nährzucker das Bifidumwachstum im Darm nicht in gleicher Masse wie Laktose, obwohl er in vitro nach Milchzucker die stärksten bifidogenen Eigenschaften aufwies (vgl. S.21). Zwar schien der Nährzucker, wie ein mit Butterschmelze und Nährzucker verpflegtes Kontrollkind (Nr.22 des 1.Versuches) zeigte, bei weitgehend eiweissfreier Kost ausreichend bifidogene Wirkung zu entfalten, aber als Zusatz zu normaler 2/3-Milch bzw. Vollmilch war dies nicht festzustellen. Vermutlich ist die Ursache hierfür in der sonstigen Zusammensetzung der Milch, besonders ihrem Eiweissgehalt zu erblicken, dessen ungünstigen Einfluss auf Bact.bif. keine fördernde Wirkung gegenüberstand.

Das Fehlen von Laktose wirkte sich nicht nur auf das Bifidumwachstum, sondern auch auf die Darmtätigkeit aus. Ohne ihre peristaltikanregenden sauren Spaltprodukte kam es zu einer Stagnation des Kotes im Rektum und häufig zu Obstipationen. Zudem siedelten sich unter solchen Bedingungen leicht Fäulniskeime an im Darm, die ihrerseits dem Auftreten von Bact.bif. entgegenwirkten und zur Entstehung stark alkalischer Reaktionen beitrugen. Damit wird verständlich, warum in den Stuhlkulturen dieser Versuchsgruppe selten höhere Keimzahlen als 10^{-2} zu finden waren. Wie Darstellung B zeigt, fallen die Bifidumkeimzahlen in den Kulturen des 2.Versuches mit steigender Verdünnung des Stuhles ab.

Entsprechend den Ausführungen PETUELY's (63a) muss nun Laktose in einem bestimmten Verhältnis zum Eiweissgehalt in der Nahrung vorkommen, um eine Wirksamkeit seines Wuchsstofffaktors zu gewährleisten. Auf Grund seiner Versuche fordert der Autor als minimalen Laktose-Eiweiss-Quotienten in der Nahrung einen Wert von 2,5. Seine Forderung scheint auch für den vorliegenden Wuchsstoff zu gelten.

Die nähere Analyse der Versuchsbedingungen ergab jedoch, dass nur bei 8 Kindern der Klinik-Versuchsreihe durch den Zusatz des Laktose-haltigen TN 36-Bi zur 2/3-Milch ein Laktose-Eiweiss-Quotient von 2,6 gegeben war. Bei diesen Säuglingen fanden sich - mit einer Ausnahme - durchwegs häufiger Bifidumkeime im Stuhl als in den Stühlen der Kontrollkinder.

Der Bifidumgehalt ihrer Stühle war auch höher als der der übrigen mit TN 36-Bi ernährten Versuchskinder, in deren Nahrung der Laktose-Eiweiss-Quotient unter 2,5 lag. - Dass der besagte Quotient keine absolute Grösse darstellt, bewiesen die Stuhlkeimanalysen dreier mit Eledon ernährter Kinder. In ihren Stuhlproben fanden sich ebenso häufig und üppig Bifidumkeime wie bei den Kindern mit einer Laktose-Eiweiss-Relation über 2,5, obwohl die Eledon-Milch nur eine Relation von 2,25 aufwies. Es liegt daher die Vermutung nahe, dass auch die Verdaulichkeit der Eiweiss- und Fettsubstanzen und die Höhe des Fettgehaltes einer Milch (für Eledon sehr gering) das für sie erforderliche Laktoseminimum bestimmen.

Das Ausbleiben jeglicher bifidogener Wirkung von TN 36-Bi beim Versuch an den gesunden Säuglingen ist daher mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die viel zu niedrigen Laktose-Eiweiss-Quotienten (zwischen 0 und 1,5) zurückzuführen. - Andererseits gibt das in den Stuhlproben der Klinikinder beobachtete Bifidumwachstum keine Aufschlüsse über die Leistung des Wuchsstoffes. Da dieser an die Wuchsstoffkinder beider Versuchsreihen in gleicher Konzentration verabreicht wurde, das Bifidumwachstum aber nur in Anwesenheit ausreichender Laktosemengen anstieg, schienen vorliegende Resultate nur eine bifidogene Wirkung der Laktose zu beweisen. Diese ist aus der Literatur hinreichend bekannt. Ob der Wuchsstoff die bifidumfördernde Wirkung des Milchzuckers darüber hinaus erhöhte, ist den gewonnenen Ergebnissen nicht zu entnehmen. Dies zu entscheiden und gegebenenfalls eine für TN 36-Bi optimale laktosehaltige Basisnahrung zu entwickeln, wird die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein.

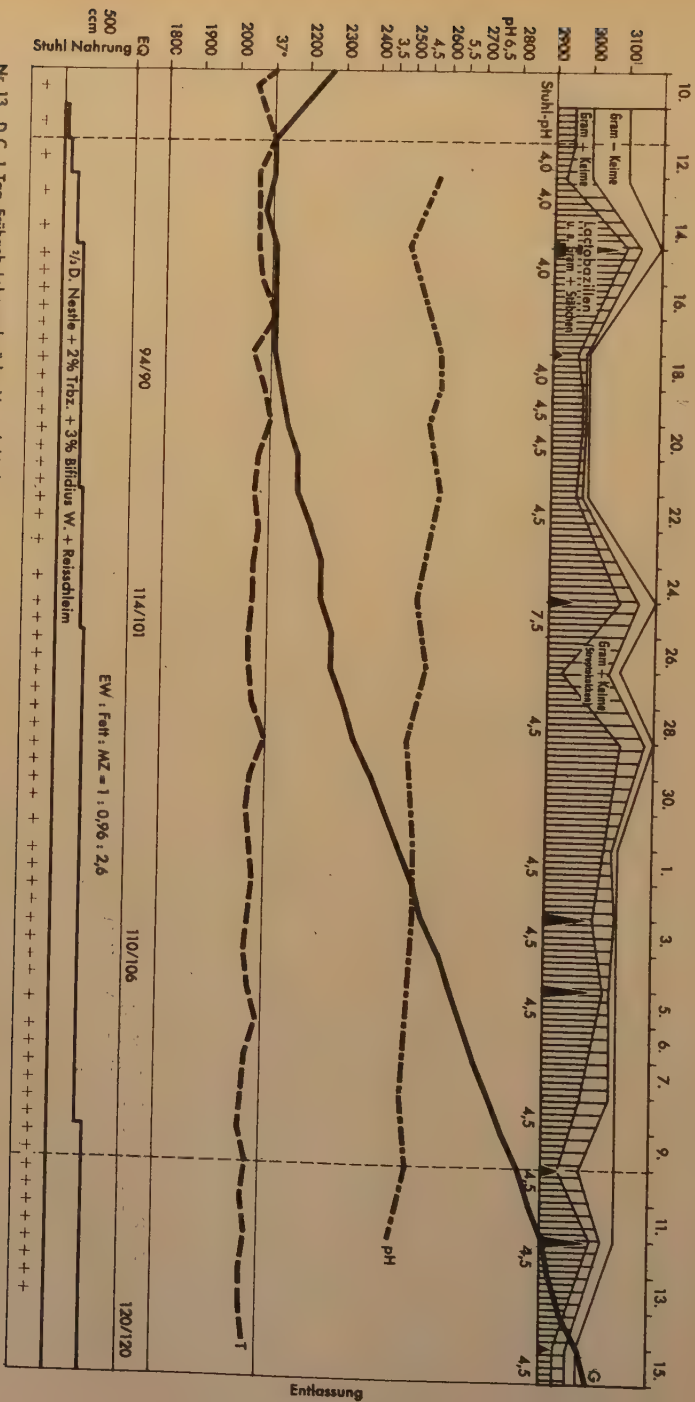
Die günstigen Bifidumkeimzahlen der Vorperiode zum 2. Versuch, die die Werte der Hauptperiode bei weitem überstiegen, legen den Schluss nahe, dass die in dieser Zeit verabreichte Saccharose entgegen den in-vitro-Test-Ergebnissen der Entwicklung von Bact.bif. zuträglicher war als Alete-Nährzucker. Vermutlich wird sie im Dünndarm schlechter resorbiert und gelangt daher in höherer

Konzentration in den Dickdarm. Eine andere Erklärung für das stärkere Bifidumwachstum der Vorperiode bietet die Annahme, dass Streptokokken, E.coli u.a. Fäulniskeime in der Gegenwart von Saccharose weniger entwicklungsfähig waren als bei Anwesenheit von Alete-Nährzucker und folglich Bact.bif. durch ihr Wachstum nicht so sehr in den Hintergrund drängten, wie es in der Hauptperiode geschah.

Das der 1.Kontrollgruppe angehörende Ammenmilchkind überraschte durch relativ geringes Auftreten von Bact.bif. in Stuhl und Kultur. Niemals erreichte dessen Bifidum-Wachstumstiter über 10^{-2} liegende Werte. Der Bifidumgehalt der Stuhlproben wurde mit 13,03 Punkten bewertet. Mehrere Kontrollkinder erzielten gleichviele Bifidumpunkte. - Trotz des sehr hohen Laktose-Eiweiss-Quotienten von 5,8 wurde die Erwartung einer üppigen Bifidumflora nicht erfüllt. Dieses Verhalten scheint PETUELY's Ausführungen (68) über die Labilität des von ihm entdeckten Bifidusfaktors der Frauenmilch zu bestätigen. Schon längere Lagerung und Transportierung, die sich auch im vorliegenden Fall nicht vermeiden liessen, sollen danach die Wirksamkeit dieses Stoffes bedeutend herabsetzen. Möglicherweise fällt dadurch ein Schutzfaktor aus, der das Gleichgewicht zwischen beiden Laktose-Isomeren künstlich zugunsten der allein bifidogenen β -Laktose aufrecht erhält.

Zwischen beiden Isomeren müsste sich dann ein physikalisches Gleichgewicht bilden, das sehr viel ärmer an β -Laktose ist als das in der frischen Muttermilch vorhandene und den relativ geringen Bifidumgehalt der Stühle des Ammenmilchkindes erklären würde.

Für den in der 2.Gruppe häufig beobachteten Wechsel zwischen obstipierter und dyspeptischer Beschaffenheit der Stühle lässt sich keine Ursache angeben, da diese unabhängig von äusseren Faktoren, wie Krankheitserrscheinungen, Nahrung und Temperatur stattfand. Ebenso war der in den Berichten mancher Autoren (18, 62, 63a) geschilderte Rückgang des Bifidumwachstums, der unter dem Einfluss fieberhafter, parenteraler Infekte erfolgen soll, bei keiner dieser Untersuchungen mit Sicherheit festzustellen. Ob den einzelnen, bei Antibiotika- und Sulfonamidgaben beobachteten Änderungen in der Flora angesichts des sehr kleinen Untersuchungsmaterials allgemeine Bedeutung zuzumessen



Entlassung

ist, muss dahinstehen. Das im Vergleich zur 2. Gruppe stark vermehrte Auftreten von Hefen im Darm kranker Kinder ist sicher als Folge der Antibiotika-Gaben zu betrachten.

Das Bestehen einer konstanten Laktobazillenflora ging meist mit regelmässigen Stuhlentleerungen bis zu 3 mal täglich einher. Die Stühle wiesen eine an Brustmilchstühle erinnernde Beschaffenheit auf, während sie bei Mischflora obstipiert und dyspeptisch aussahen und nur einmal am Tag entleert wurden. Die Gewichtsanstiege erfolgten bei Anwesenheit von Bact.bif. gleichmässig und wiesen nicht so viele Schwankungen auf wie in Fällen von Mischflora. Das Verhalten des Kindes Nr. 13 aus der 1. Versuchsgruppe sei in Form einer Einzeltabelle als Beispiel hier wiedergegeben und einem anderen Versuchskind der 2. Untersuchungsreihe gegenübergestellt (Nr. 2), dessen Flora auf den Wuchsstoff nicht ansprach.

Allerdings zeigten viele Kinder auch ohne Anwesenheit von Bact. bif. eine zufriedenstellende Gewichtszunahme. Entsprechend liessen die Wuchsstoffkinder beider Gruppen trotz unterschiedlichen Bifidumgehaltes der Stühle dieselbe durchschnittliche Gewichtszunahme erkennen, so dass aus diesem Verhalten der Kinder keine Beziehung der Bifidumflora zum Gewichtsanstieg der Säuglinge hervorgeht.

D. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst die in der Literatur niedergelegten Kenntnisse über das Bifidumproblem in Kürze beschrieben. Dabei zeigte sich, dass für das Entstehen einer Bifidumflora im Säuglingsdarm die verschiedensten Faktoren von Bedeutung sind. Besonders Nahrungseinflüsse, das Allgemeinbefinden des Kindes sowie therapeutische Gaben von Antibiotika und Sulfonamiden spielen hierbei eine wichtige Rolle. Mehrere Autoren (ADAM, BESSAU, MAYER) messen Bact.bif. im Darm eine Schutzfunktion gegenüber pathologischen Keimen zu.

In 2 eigenen Untersuchungsreihen wurde ein neuer Bifidumwuchsstoff, TN 36-Bi, der ungesättigte Phosphatide als Wirksubstanzen enthält, an 27 kranken Säuglingen der Kinderpoliklinik und 35 gesunden Kindern des Säuglingsheimes BRUNNTHAL auf seine

bifidumfördernde Wirkung und seine Verträglichkeit erprobt. Der Wuchsstoff wurde gut vertragen. - Im Vergleich zu ihren Kontrollkindern waren bei den mit dem Wuchsstoff ernährten Kindern der Klinik häufiger, regelmässiger und in höherer Konzentration Bifidumkeime im Stuhl vorhanden. Dieser Befund konnte in der 2. Versuchsreihe bei den gesunden Säuglingen nicht bestätigt werden.

Bei der Diskussion der Ergebnisse wurden die Ursachen dieses Befundes analysiert. Da der Wuchsstofffaktor der Nahrung beider Versuchsgruppen in gleicher Konzentration zugesetzt wurde, können die besseren Resultate der 1. Gruppe nicht, zumindest nicht ausschliesslich, auf seine Anwesenheit zurückgeführt werden. Das stärkere Auftreten von Bact.bif. in der 1. Versuchsreihe steht wohl deshalb zur Verabreichung von TN 36-Bi in Beziehung, weil diesem als Trägersubstanz Laktose beigegeben war, die von sich aus schon bifidogen wirkt. Ob der Wuchsstoff darüber hinaus diese Wirkung der Laktose verstärkte, liess sich auf Grund der Versuchsergebnisse nicht entscheiden.

Das geringe Vorkommen von Bact.bif. in den Stuhlproben der 2. Untersuchungsreihe erklärt sich möglicherweise aus dem Ersatz der Laktose durch Alete-Nährzucker, der nur schwach bifidogene Eigenschaften entwickelte.

Weiterhin wurde versucht, das für eine bifidogene Nahrung nötige Laktose-minimum zu bestimmen. Es zeigte sich, dass dieses je nach Eiweissgehalt sowie der sonstigen Beschaffenheit der Nahrung verschieden gross war. Entsprechend PETUELY's Ausführungen schien das Laktose-Eiweiss-Verhältnis für reine 2/3-Milch bei 2,5 liegen zu müssen, für Eledonmilch nach eigenen Beobachtungen dagegen nur bei 2,25.

Die in der Vorperiode zum 2. Versuch verwendete Saccharose begünstigte die Entwicklung von Bifidumkeimen im Darm stärker als Alete-Nährzucker und mehr als es die in-vitro-Versuche erwarten liessen.

Im Unterschied zur Beobachtung anderer Autoren war bei den vorliegenden Versuchen ein Einfluss parenteraler Infekte auf die Darmflora - vermutlich wegen des zu kleinen Untersuchungsmaterials - nicht sicher festzustellen. Dagegen fiel in manchen Fällen das stark vermehrte Auftreten von Hefen (*Candida albicans*) im Darm kranker Kinder, die mit Antibiotika behandelt wurden, auf und war mit diesen zweifellos in Zusammenhang zu bringen.

Erklärung

der in den Einzeltabellen vorkommenden Kurven und Abkürzungen

1. Bakterienspektrum: Am oberen Ende jeder Einzeltabelle gelegen. Die volle Breite des Spektrums stellt den Gesamtkeimgehalt des Stuhles dar und erstreckt sich je nach keimreicher, mässig keimhaltiger oder keimarmer Flora über 3,2 oder 1 grosses Quadrat der Zeichnung. Innerhalb der "Gesamtkeimfläche" zeigt das zuoberst gelegene, hell gehaltene Feld den Prozentgehalt des Stuhles an gramnegativen Keimen (*E.coli*, *Proteus vulgaris*) auf, das darunter folgende, dunkelgetönte Feld veranschaulicht alle grampositiven Keime. Es ist nochmals unterteilt in einen schraffierten Anteil für grampositive Stäbchen (*L.bif.*, *L.acidophilus* und Sporenbildner) und einen nicht schraffierten für grampositive Kokken (Streptokokken). Die schwarzen kleinen Pyramiden lassen das Wachstum von *L.bif.* und dessen Titer erkennen, geben also Kulturbefunde wieder. Sie erreichen für die Verdünnungsstufen 10^0 , 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} und 10^{-8} je 10% der Gesamthöhe des Spektrums. Enthielten beispielsweise die Kulturen von 10^0 bis 10^{-8} durchlaufend *Bifidum*keime, so erstreckt sich die Pyramide bei keimreicher Flora über 15 kleine Quadrate der Zeichnung, d.h. über 50% der Spektrumhöhe. Welches starkes Wachstum in den einzelnen Kulturen erfolgte, geht aus dieser Darstellung nicht hervor. Aber der Verdünnungsgrad selbst, bei dem noch *Bact.bif.* gefunden wurde, lässt Rückschlüsse auf den ursprünglichen Gehalt des Stuhles an entwicklungsfähigen Keimen zu.
2. Kurven: ————— Die durchlaufenden Kurven geben den Gewichtsverlauf wieder.
----- Die unterbrochene Linie stellt den Temperaturverlauf dar.
-.-.-.-. Die durch Punkte unterbrochene Linie stellen die pH-Werte der Endverdünnungskulturen dar, in denen noch ein Bakterienwachstum erfolgte.
3. Nahrungen: Tr. = Traubenzucker, N = Nährzucker, Bif. = *Bifidum*wuchsstoff, R = Rohrzucker, Mo = Mondamin, KZ = Kochzucker, Reisschl. = Reisschleim
4. EQ: Energiequotient = das Verhältnis des Caloriengehaltes der aufgenommenen Nahrung pro kg Sollgewicht des Kindes zum gleichen Caloriengehalt pro kg des tatsächlichen Körpergewichtes.
5. Stühle:
= normaler Stuhl + = weicher Stuhl
- = wässriger Stuhl x = schleimiger Stuhl
⊗ = blutiger Stuhl Erb. = Erbrechen
M = Meconium

6. Blutbefunde:

HB = Hämoglobingehalt des Blutes
Ery = Erythrozytenzahl in Mill. angegeben
/ccm Blut
BKS = Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
Leukos = Leukocyten
Monos = Monocyten
Seg = Segmentkernige
Stab = Stabkernige

7. Urinbefunde:

Granul.Cyl. = Granulierte Cylinder

S c h r i f t t u m

- 1 ADAM, A. Über Darmbakterien V.Grundlagen der Ernährungs-
physiologie des Bact.bif.
Z.f.Kinderh. Bd.29, S.306, 1921
- 2 - Über Darmbakterien V.Über den Einfluss der H-
Ionenkonzentration des Nährbodens auf die Ent-
wicklung des Bact.bif.
Z.f.Kinderh. Bd.31, S.331, 1922
- 3 - Darmflora und Darmfunktion
Jb. Kinderh. Bd.99, S.93, 1922
- 4 - Die Entstehung der Bifidumvegetation.
Jb. Kinderh. Bd. 110, S.196, 1925
- 5 - Annäherung einer Heilnahrung an die natürliche
Ernährung des Säuglings,
Mschr. Kinderh. Bd.97, S.500, 1949
- 6 - Antibakterielle und symbiont. Ernährung
enteritiskranker und gesunder Säugling,
Ärztl. Forschung, Bd8, S.169, 1954
- 7 - Verdauung und Darmbakterien,
J. Brock, Physiol. Daten f. d. Kinderarzt,
II. Auflage, 1.Bd., S.553, 1954
- 8 - Säuglingsenteritis,
Verl. Thieme/Stuttgart, S.369, 1956
- 9 BACHMANN u. Ein neuer Bifidusnährboden mit Alele-Früh-
VIEHMANN nahrung,
Z. f. Kinderh. Bd.73, S.610, 1953
- 10 BAMBERGER, Ph. Zur Morphologie und Biochemie d. Bact.bif.
Moderne Probleme der Pädiatrie, S. 13, 1957,
Verl. S.Karger, Basel, New York.
- 11 BAUMGAERTEL, T. Physiologie und Pathologie d. Darmflora.
Dt. med. Wschr. S.1309
- 12 - Klinische Darmbakteriologie,
Verl. Thieme/Stuttgart S. 7-33, 1954
- 13 BERGEY, D. H. Manual of determinative bacteriology, London,
1950
- 14 BESSAU, G. D. künstl. Ernährung d. Säuglings,
Mschr. Kinderh., Bd.92, S.137, 1943
- 15 BLAUROCK, G. Zur Physiologie der Bifidusbakterien,
Mschr. Kinderh., Bd.68, S.304, 1937
- 16 - Bifiduszüchtung auf cystinhaltig. Nährböden,
Zbl. Bakt. I, O., Bd.144, S.75, 1939
- 17 BOVENTER, K. Untersuchungen über d. Bact. bif.
Zbl. Bakt. I O, Bd.142, S.419, 1938
- 18 - Bact.bif. und seine Bedeutung
Erg.Hyg. Bd.26, S.193, 1949
- 19 BRAUN u.DEHNERT Untersuchungen über Bifiduswuchsstoffe,
Mschr. Kinderh., Bd.103, S.177, 1955

- 20 - u.MARGET Beitrag zur Züchtung u. Differenzierung von L. bif.
Z. f. Kinderh., Bd.70, S.641, 1951
- 21 CATEL, W. Über die bei Vergärung von Kuh-u. Frauenmilch durch Bact. bif. entstehenden Gärungs-säuren,
Jb. Kinderh., Bd.107, S.347, 1930
- 22 - Prakt. Bedeutung d. Darmflora, Redaktionell: Kongreßberichte d. 63. Tagg. d. Dt. Ges. f. Inn. Med. (29.IV.-2.V.1957) Wiesbaden
Ärztl. Praxis, IX, Nr.18, Sonderbeil.
- 23 DIFCO Difco-Manual 1953, Detroit, I Michigan, U.S.A.
- 24 DÜSTERWALD, W. Über ein neues Bifidum-erzeugendes Nahrungs-gemisch für Säuglinge d. ersten Lebensmonate,
Med. Klin. 1143, 1950
- 25 EHRENBERG zitiert nach Nr. 55
- 26 FEER Lehrbuch der Kinderheilkunde,
Verl. Thiemich, S. 11,
- 27 FREERKSEN Praktische Bedeutung der Darmflora, vgl.Nr.22
- 28 GYÖRGY, P. A hitherto unrecognised biochemical difference between human milk and cow's milk.
Pediatrics Nr. 10, p.98, 1953
- 29 - Development of Intestinal Flora in the Breast-Fed Infant, Moderne Probleme der Pädiatrie,
Verl. S.Karger, Basel, New York S.1, 1957
- 30 -,NORRIS, ROSE, SPRINGER Bifidus I. A variant of L.bif. requiring a special growth factor,
Arch. Biol. Biophys. v. 48, p.193, 1954
- 31 - Bifidus factor IV. Preparations obtained from human milk
Pediatrics v. 11, p.98, 1953
- 31a - Bifidumnährboden, Aug. 64, 496, 1952.
- 32 GYLLENBERG,ROS-SANDER, ROINE On the Growth-Inhibition of L. bif. by Certain Fatty Acids.
Acta chem. Scand. v.8, p.133, 1954
- 33 - Strepogenin as a Growth Factor for L.bif.,
Acta chem. Scand. v.7, 1953
- 34 HABILD, G. Über das Vorkommen von a-Laktose u. B-Laktose in d. Frauenmilch u. Kuhmilch,
Z. f. Kinderh., Bd.67, S.206, 1949
- 35 HAENEL Über das Vorkommen von anaeroben Laktobazillen bei Säugling u. Erwachsenen,
Z. f. Kinderh., Bd.78, S.592, 1956
- 36 JOCHIMS, J. Zur Methodik einer klin.Beurteilung von Säuglingsnahrungen
Z. f. Kinderh., Bd.73, S.595, 1953

- 37 JORNS, J. Über den Einfluß des Streptomycins auf d. Entwicklung d. Bifidumflora im Darm des Neugeborenen,
Z. f. Kinderh., Bd.70, S.381
- 38 KECK, J. u. GOETH Ein Beitrag zur Frage des Wuchsstoffbedarfes von L.bif.
Naturwissenschaften, Jahrg.44, Heft 14, S.401, 1957
- 39 - Pers. Mitteilung
- 40 KENDALL, A. u. Bact.bif. 71. Studies in bacterial metabolism
HAUER, R. J. inf. Dis. 35, 77 (1924).
- 41 KUHN, R. L.bif. Vitamine der Milch
Angew. Chemie 64, S.495, 1952
- 42 LEHMANN u. NEUMANN Bakteriologische Diagnostik
Bd. II, Aufl. S.582, 1927, Mü, Lehmann 1927
- 43 MAASSEN u. Untersuchungen zur Feststellung des Über-
ALBERTSEN ganges von L.bif. auf den Neugeborenen,
Archiv f. Hyg. 123, S.367, 1940
- 44 MALYOTH u. Eine bifidus-fördernde Säuglingsnahrung im
SPANIER klin. Versuch,
Mü med. Wschr. 607, 1950
- 45 - u. GÜNTHER Beobachtungen am Bact.bif.
Z. f. Kinderh., Bd.68, S.358, 1953
- 46 - u. BAUER u. Ein Beitrag zur Wuchsstofffrage d. B.bif.,
SERICK Z. f. Kinderh., Bd.73, S.93, 1952
- 47 MALYOTH, G. Noch einmal: die Stellung des Milchzuckers
in d. Säuglingsernährung,
Ärztl. Wschr. 201, 1950
- 48 - Gedanken zu diättherapeut. Handeln in d.
Kinderh.
Archiv f. Kinderh. 27, 1938
- 49 - Über Dextrin-Maltose-Gemische als Zucker für
Säuglinge,
Ann. Paediatrici, Bd.174, S.34, 1956
- 50 MARGET, W. Biol. Schutz gegen mögliche Darmschäden durch
Antibiotika Redaktionell:
Taggs. Bericht d. med. Ges., Freiburg
Therapie d. Monats, Heft Nr. 1957, S.
- 51 MAYER, J.B. Über Erfahrungen und Untersuchungen mit
Alete-NZ,
Z. f. Kinderh., Bd.59, S.57, 1937
- 52 - Die Bifidus-Milch und ihre Erfolge,
Mschr. Kinderh., Bd. 98, S.189, 1950
- 53 - u. MOSER, L. Die Typendifferenzierung des Thermobact, bif.
Z. f. Kinderh., Bd.67, S.455, 1950
- 54 - Pilzerkrankungen und moderne Pilzerkrankungen,
Kinderärztl. Praxis, Bd.23, S.2, 1955

- 55 - das Bifidusproblem,
Ergeb. d. Inn.Med. u. Kinderh. S.429, 1956
- 56 - Entwicklung einer neuen Säuglingsnahrung
mit Thermobact.bif.
Z. f. Kinderh. 65, S.293, 1948
- 57 - Biolog. Studien über Bact.bif.
Mschr. Kinderh., Bd.97, S.420, 1949
- 58 MOSER, L. Neuere Untersuchungen über die Herkunft
des Bact.bif.
Z. f. Kinderh., Bd.68, S.25, 1950
- 59 MÜLLER Klinische Erfahrungen bei der Behandlung
der chron.Obstipation mit lebenden Coli-
bakterien.
Med. Klin. Bd.50, S.2159, 1955
- 60 MÜLLER, E. Über die Bedeutung des Milchzuckers für die
Säuglingsnahrung,
Z. f. Kinderh., Bd.65, S.269, 1952.
- 61 ORLA-JENSEN Classification des bacteries lactiques.
Lait 4,468, 1924.
- 62 PATZ, O Einfluß von Infekten, Medikamenten, u. Witterung
auf die künstliche Bifidumflora des Säuglingsdarm
Mschr. Kinderh., Bd.99, S.353, 1951
- 63 PETUELY, F. Ist eine quantitative Erfassung der in den
Säuglingsstühlen vorhandenen Bifidumkeime
durch Züchtung möglich?
Z. f. Kinderh., Bd.78, S.28, 1956
- 63a - Über das Bifidumproblem,
Mü med. Wschr. 263, 1956
- 64 - Über die Züchtung des L.bif. auf Vollsynthet,
Nährboden,
Biochem. Z. Bd.322, S.463, 1952
- 65 - Biochemie des Bifidumfaktors. Redaktionell:
Taggs.bericht d. Ges. f. Physiol.Chemie,
Hamburg, 27.IX. Ber.Ges.Biol. 189, S.112, 1957
- 66 PETUELY u. LYNNAU Ein einfacher vollsynthet.Optimalnährboden
für den L.bif.
Biochem. Z. Bd.326, S.62, 1954
- 67 - u. KRISTEN Untersuchungen über den Bifidus-Faktor,
Österr. Z. f. Kinderh. Bd.4, S.121, 1950
- 68 - Bifidus-Faktor bei Flaschenkindern durch
bifidogene Substanzen (Bifidus-Faktor)
Z. f. Kinderh., Bd.79, S.174, 1957
- 69 - Über die quantitative Erfassung des L.bif.
im Stuhl von Säuglingen
Z. f. Kinderh., Bd.79, S.180, 1957
- 70 - Der Bifidus-Faktor, ein neuer, vitaminart.
Wirkstoff.
Naturwissensch. 40, S.349, 1953

- 71 - Über den Bifidus-Faktor
Mschr. Kinderh., Bd.101, S.207, 1953
- 72 - Ein einfacher vollsynthet. Selektivnährboden
f. d. L. bif.
Zbl. f. Bakter. I.166, S.95, 1956
- 73 v-PLOTHO Untersuchungen an Bact.bif.
Zbl. f. Hyg. IO, 152, S.90, 1947
- 74 PRIMNIG u.TUR-
KUS Über den Einfluß der B-Laktose auf die Darm-
flora des Säuglings,
Z. f. Kinderh., Bd.63, S.595, 1942
- 75 REICHELT, E. Vergleich der Vitaminwirkung von Bact.bif.
mit Bact.coli mit Hilfe der Reistaubenmethode
Mschr. Kinderh., Bd.77, S.327, 1939
- 76 RIESS, E. Untersuchungen über die Darmflora des Säug-
lings unter besonderer Berücksichtigung der
Verhältnisse beim durch Schnittenbindung ge-
borenen Kind,
Z. f. Kinderh., Bd. 74, S. 343, 1954
- 76a ROLLE u.KALICH Zur Diagnose der toxischen Colikeime durch
Agglutination der Spermazellen.
Münch. med. Wschr. 1954, S.579, Bd.96
- 76b-u. MEHNERT Hefen als Symbionten bei Säugetieren.
Zbl. f. Bakt. IO, Bd.168, S.268, 1957
- 77 ROSE u. GYÖRGY Observations on Bacterial Interaction,
Proc.Soc.Biol. Med. 89, p. 23, 1955
- 78 -, LUCKI, AVERY Mono-u. Disaccharide in Growth of L.bif.
NORRIS, GYÖRGY and its Mutants,
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 81, p.712, 1952
- 79 ROUFOGALIS Untersuchungen über die Besiedlung des Neu-
geborenendarmes mit Bact.bif.
Z. f. Hyg. Bd.123, S195, 1942
- 80 - D.Bact.bif.
Klin.Wschr. S.598, 1940
- 81 SCHIMANSKY Über die Verwendung von B-Laktose in d.
Säuglingsernährung
Z. f. Kinderh., Bd.63, S.778, 1943
- 82 SCHÖNFELD Über die Beziehungen der einzelnen Bestand-
teile der Frauenmilch zur Bifidumflora,
Jb. Kinderh. 113, S.19, 1926
- 83 SHEGGSu.MITARB. The Nutritional Requirements of L.bif.
and L. Leichmanii
J. bacterial 65, p.733, 1953
- 84 STEPP Praktische Bedeutung der Darmflora,
Vgl. Nr. 22
- 85 STÖLTING Versuche zur Feststellung, wie Bact.bif.
TISSIER in d. Darmtrakt des Säuglings gelangt,
Mschr. Kinderh., Bd.83, S.334, 1953
- 85a TIEDEMANN Vgl. Nr. 10

- 86 TISSIER Etude sur la flore intestinale normale
et pathologique du nourrisson.
Thèse de Paris. 1900
- 87 - Repartition des microbes dans L'intestin
du nourrisson.
Ann.Inst.Pasteur, 19, 110, 1905
- 88 THURAU Über die Bedeutung der künstl.Bifidumflora,
Mschr. Kinderh. 103, S.176, 1955
- 89 - Beitrag zum Stoffwechsel d. S-haltigen
Aminosäuren im Haushalt des Säuglings,
Klin. Wschr. S.978, 1952
- 90 VELTRE u.MITARB. Nutritional Requirements of Lactobac.bif.
Isolates from Poults and Chicks.
Biol. Med. 83, p.284, 1953
- 91 WEISS u.RETTGER Lactobacillus bif.
J. of Biochem. 28, p.501, 1934
- 92 ZEISSLER u. Zur Bakteriologie des Säuglingsstuhles.
KAECKEL Jb. Kinderh. 99, 308, 1922
- 93 ZETTLER D. Wiederbesiedlung d. Darmes mit Colibact.
Mü med. Wschr. 1527, 1955.

-
- 94 LYPHAN-Streifen von Dr. Kloz, B e r l i n
- 95 MERCK-Papier Fa. Merck A.G., D A R M S T A D T

Herrn Privat-Dozenten Dr. Th. HELLBRÜGGE danke ich ergebenst für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung der Arbeit.

Ebenso bin ich Herrn Prof.Dr. WEBER für sein Entgegenkommen bei den Untersuchungen an der Kinderpoliklinik, sowie Herrn Prof.Dr.med.vet. ROLLE und Frau Dr. B. MEHNERT für die Förderung der Untersuchungen sehr zu Dank verpflichtet.

Ich gleichen Sinne gedenke ich der Bemühungen Frau Dr.BECKERS vom Säuglingsheim Brunntal

Lebenslauf

Ich wurde am 11. März 1935 in München als Tochter des Rechtsanwalts Dr. B. Settele-Brand geboren.

Nach fünfjährigem Besuch der Volksschule trat ich in die Mädchenoberrealschule in Kloster Zangberg ein. Die Reifeprüfung legte ich 1953 in der Oberrealschule München - Nymphenburg ab. Anschliessend nahm ich das Medizinstudium auf und absolvierte alle Semester in München. Nach dem Winterhalbjahr 1956/57 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und im Sommer 1959 beendete ich das Staatsexamen.

